

高度に結晶特性を制御するための晶析操作と装置

2013年9月

五十嵐 幸一

高度に結晶特性を制御するための晶析操作と装置

2013年9月

いがらし こういち

五十嵐 幸一

目 次

第1章 序論	1
1.1 本研究の背景	1
1.1.1 結晶粒径及び粒径分布	1
1.1.2 結晶多形	3
1.1.3 純度	5
1.2 本研究の目的と各章の概要	6
第2章 ウォールウェッター (Wall Wetter/Double-Deck Jacket (WWDJ)) 晶析装置を用いた粒径と多形の制御	7
2.1 緒言	7
2.2 実験	9
2.2.1 実験装置	9
2.2.2 制御プログラム	12
2.2.3 実験方法	13
2.3 結果と考察	16
2.3.1 ウォールウェッターによる液の散布速度の測定	16
2.3.2 上下ジャケット温度と内部温度の関係	18
2.3.3 下部ジャケットの総括伝熱係数を用いた詳細な温度制御	21
2.3.4 グリシンの晶析挙動に及ぼす冷却速度の影響	28
2.3.5 グリシンの結晶多形に及ぼす影響	33
2.3.6 グリシン結晶の純度に及ぼすWWDJ晶析装置の効果	38
2.4 結言	44
第3章 高速攪拌機を備えたミリリットルスケール晶析装置による貧溶媒晶析	46
3.1 緒言	46
3.2 実験	48
3.2.1 実験装置	48
3.2.2 試薬	50
3.2.3 ミリリットルスケール晶析装置を用いた貧溶媒晶析	51
3.3 結果	52
3.3.1 結晶のサイズおよび形状に及ぼす平均滞留時間の影響	52

3.3.2	アミノ酸溶液と貧溶媒の混合比率が結晶形状及び多形に及ぼす影響	57
3.3.3	ミリリットルスケール晶析装置と従来型装置の比較	62
3.4	結言	63
第4章	マイクロ波を用いたイブプロフェンの結晶化	65
4.1	緒言	65
4.2	実験	67
4.2.1	試薬	67
4.2.2	フリー体イブプロフェンの調製方法	68
4.2.3	マイクロ波晶析装置	68
4.2.4	マイクロ波照射下におけるイブプロフェンの結晶化	70
4.3	結果	71
4.3.1	マイクロ波晶析に適した溶媒の選定	71
4.3.2	マイクロ波照射下におけるイブプロフェンの冷却晶析	74
4.3.3	ヘキサン中におけるイブプロフェン分子の会合体形成	76
4.3.3	アセトン少量添加系からの冷却晶析	79
4.4	結言	81
	－総括－	83
	－参考文献－	86
	－発表論文－	91
	謝辞	92

第1章 序論

1.1 本研究の背景

晶析は医薬品、化学製品、食品などの生産に広く用いられる分離精製の単位操作の一つである。目的物質が固体として回収されるため、濾過等により固液分離が可能であり、その後の分離操作が容易となる。また、結晶中では分子が規則正しく整列しているため、高純度の目的物質が得られる。晶析操作は一般的に単位操作の中ではエネルギーコストが低いとされている。

医薬品の多くは、有効成分（原薬）が固体（結晶）として含まれているため、晶析は重要な工程である。特に最終製品である原薬結晶の品質は体内における薬効にも影響を及ぼすため、様々な結晶特性の制御には特に注意しなければならない。例えば、原薬の生産過程では何段階にもおよぶ合成経路の各ステップで原料や副生成物から目的物質を分離させるために晶析操作が行われるが、各ステップでの収率向上と、純度に注意しなければならない。微量に含まれる原料や副生成物の影響で、所望の結晶特性が得られない恐れがあるからである。

医薬等の製造のために晶析操作を行う場合、再現性よく様々な結晶特性を制御して、目的の結晶を作らなければならない¹。制御すべき結晶特性には粒径や粒径分布、結晶多形、純度、形状、結晶化度など様々なものがあり、これらの制御がうまくできていないとその後の操作性や品質に多大な影響を及ぼす。従って、晶析条件と得られる結晶の特性の因果関係を明らかにし^{2, 3}、理屈に基づいた結晶特性制御が重要である。

以下に、上記の様々な結晶特性の制御に関する現状とそれらの制御を目指して過去に行われてきた研究について述べる。

1.1.1 結晶粒径及び粒径分布

結晶粒径及び粒径分布は晶析工程において非常に重要な制御すべき特性の一つである。工業晶析においては、その目的によって大きな結晶が望まれる場合

もあれば、小さな結晶が望まれる場合もある。溶液から晶析により目的物質を固体として析出させ、濾過により母液と結晶を分離する場合、小さな結晶が多いと濾紙や濾布上で目詰まりを起こすことが多い。工業生産においては、遠心分離器により濾過を行うことが多い。さらに、遠心分離後に洗浄操作として新たに溶媒を投入して遠心操作を繰り返し行う場合もある。濾布が目詰まりすると24時間以上運転しても母液が取り除けないこともあり、エネルギーを無駄に消費しコスト面でも問題がある。また、最終的に母液が完全に取り除けなかった場合、母液に含まれる不純物が結晶表面上に留まることになり、結果として製品結晶の純度低下の原因となる。従って、濾過による固液分離性を重視する場合、微結晶の少ない均一で大きな結晶の作製が望まれる⁴。どうしても大きな結晶が得られず微結晶が析出し、濾過性が問題になっている場合は、晶析工程の中で微結晶を凝集させて目的サイズの粒子を得るといった試みも実際に医薬品等の生産に利用されてきた。逆に、小さな結晶が望まれる場合も多い。結晶のサイズが大きいと結晶間の空隙も広くなり、特定の容器に入れられる結晶の量が少なくなってしまう。製品の輸送に着目した場合は、小さな結晶の方が嵩密度が高く有利である。詳細については本論で述べるが、近年、水難溶性の医薬品が増えてきており、その溶解性向上のため結晶の微粒子化が望まれている。

このように、結晶の粒径を制御することは非常に重要であるが、そもそも結晶の粒子サイズは理論析出量と結晶個数によって決まる。目的物質を溶解させた溶液を冷却していくと、ある温度で溶解度曲線を越えて過飽和状態となり結晶が析出する。結晶が析出する量は仕込み濃度と目的温度での溶解度の差で決まり、溶液の濃度がその温度での溶解度に達すると結晶成長は停止する。得られる結晶の量は理論的にはどのような粒径でも同じであるが、目的のサイズの結晶を得るためには結晶の数をコントロールしなければならない。なぜなら、結晶のサイズは物質収支で決まる結晶量と数で決まるからである。結晶のサイズをコントロールするためには結晶の数を調節すればよいが、容易ではない。例えば、結晶のサイズを10分の1に小さくしたい場合、結晶の個数は1000倍に

増やさなければならない。

一般に、結晶の粒径分布はブロードなものより、シャープである方が望ましい。ブロードな粒径分布は結晶発生時期がランダムで制御できていないことを意味する。溶液から結晶が現れる1次核化の他に、2次核化により粒径分布がブロード化あるいは多峰化することが知られている。2次核化は、粒子間や粒子-攪拌翼間での衝突に起因する核発生であり、メインの目的粒径の結晶以外に多数の微結晶発生を引き起こす。

2次核発生を抑制する対策として、Mullinらによる制御冷却法^{5, 6}や、久保田ら^{7, 8}による種晶添加による2次核発生抑制法（シードチャート法）などが提案されている。制御冷却法は実際にやってみるとうまくいかないという事例の方が多く、シードチャート法は種晶添加が行えない医薬品晶析などで使えないというデメリットもある。また、発生した2次核をスラリーごと抜き取って微結晶溶解装置に送り、微結晶を溶解させてしまうという方法もあるが、設備が複雑化し、洗浄のバリデーションを保証する点で問題がある。

1.1.2 結晶多形

結晶中では、分子が規則正しく配列しており決まった分子間相互作用により結合している。また、結晶中では全ての分子が同じコンフォメーションをとっている。

ある物質にとって規則正しい並び方は1つ以上存在する場合があります、それらの構造が異なる結晶を結晶多形という。化合物によっては結晶中に溶媒分子を取り込んでいるものもあり、そのような結晶を溶媒和物または擬多形と呼ぶ。溶媒和物では、結晶内で化合物間の相互作用だけでなく、溶媒分子を介した相互作用も存在するため、溶媒分子の存在が結晶形成に重要な役割を果たしている。医薬においても数多くの水和物が知られており、欧州薬局方に登録されている結晶医薬品の1/3は水和物である⁹。

結晶構造が異なると、同じ物質でも溶解度や安定性などが異なるため、結晶多形の制御は非常に重要である。特に医薬では結晶の溶解特性が薬物の体内動

態に影響を及ぼす恐れがあり¹⁰、ある一つの結晶多形を確実に製造する技術が要求される。

さらに、基本特許の期限が切れた医薬化合物においては結晶多形そのものが特許となるため¹¹、できるだけ多くの結晶多形を見つけておくことが重要である。結晶多形は、温度や飽和度、pH、溶媒の種類や組成など、結晶化に関わる様々なパラメーターに依存している。医薬品開発の現場では、数千通りもの結晶化条件を試して結晶多形のスクリーニングを行い、析出する可能性のある多形を調べている。効率よく多形スクリーニングを行うために、粉末X線回折装置、ラマンスペクトルや熱分析を組み込んだロボットシステムも開発され、ハイスループットな多形スクリーニングが行われている¹²。そして、安定性や経済性なども考慮し、もっとも適した多形を確実に製造するプロセスの開発が行われている。

結晶多形の制御は、様々な結晶特性の制御の中で最も難しいものの一つである。一つの化合物が、どのようなメカニズムで異なる構造を持つ結晶となるのか詳しくはわかっておらず、様々な結晶化条件を試すより方法がないからである。近年、分子の構造から取り得る可能性のある結晶多形を予測するソフトウェアが開発されているが^{13, 14}、リストアップされた結晶構造と実際に見つかっている結晶構造が一致しない場合も多い¹⁵。まだ見つかっていない結晶多形が計算により予測された場合、今後見つかる可能性はわからないのが現状である。

結晶多形が存在する場合の特徴的な現象として溶媒媒介転移がある¹⁶。上述のように、多形が異なると物質の溶解度が異なる。一般に、溶解度の一番低い多形を安定形、高い結晶を不安定形、中間を準安定形と呼ぶ。溶液中に安定形と準安定形が存在した場合、溶液の濃度は安定形の成長に伴い、安定形の溶解度に近づく。安定形の溶解度付近では、準安定形にとって未飽和であるので、準安定形の溶解が起こる。最終的に、準安定形は消滅して安定形のみが残る。これを溶媒媒介転移と呼んでいる。所望の結晶が準安定形の場合、物質が溶液中で安定形に転移してしまう可能性があるため、いかに溶媒媒介転移を抑制す

るかが重要となる。これまでに検討されてきた対策としては、過飽和度を調整し安定形の核発生を抑制する。温度によって安定形と準安定形の溶解度が逆転する（互変系）化合物も多く見つかったので、目的の結晶の溶解度が低い条件で晶析操作を行うことや目的の多形の種結晶を大量に添加し、結晶化を早めて素早く回収することなどが報告されている。

1.1.3 純度

多くの医薬化合物は何段階もの合成ステップを経て製造されており、各ステップで晶析操作等による分離精製工程が存在する。純度は、医薬中間体においても最終原薬においても、厳密にコントロールされなければならない結晶特性の一つである。結晶中では分子間相互作用に基づき、分子が高密度に整列している。純度が99.9%の化合物がそのまま結晶化すると、縦横高さ方向に10分子の格子の中に1分子の割合で不純物分子が入ることになるが、通常はそのような状態では結晶を形成することができない¹⁷。従って、純度が99.9%の溶液から得られた結晶は、より高純度になっていると考えられる。このように、原理的には晶析は目的物質を高純度にする操作であるといえるが、実際には純度が問題となるケースも多い。例えば、不純物を母液ごと結晶内部に取り込んでしまう事例や、晶析後の固液分離・洗浄操作が不十分で結晶表面に不純物が付着したまま乾燥してしまう事例などがある¹⁸。母液の取り込みについては、結晶粒子径を制御することである程度改善することが可能である¹⁹。

不純物の構造が目的物質と類似しており、しかも少し小さい場合、直接結晶格子内に取り込まれる場合もある。合成過程では、原料や副生成物が目的物質と似ている場合が多いため、不純物が入りやすい。また、類似の不純物は結晶表面に付着し、成長を抑制したり、形や構造に影響を及ぼす。例えば、斉藤らはp-アセトアニシジドの結晶化において、類似化合物p-アセトアセトアニシジドが微量添加されると、結晶の形状が板状から柱状に変化することを報告した²⁰。スルファチアゾールの例²¹のように不純物として含まれる反応中間体の影響で、析出する多形の安定性が変化する場合もある。

以上のことから、通常の晶析操作において不純物混入を抑える技術の開発が重要である。

1.2 本研究の目的と各章の概要

本研究では、様々な結晶特性の中でも粒径及び粒径分布、結晶多形、結晶形状、純度に注目し、それらの制御が可能な新規晶析装置を開発した。

第2章では、濾過操作に適した粒径の大きな結晶を作製することを目的として、ウォールウェッター (Wall Wetter/Double-deck Jacket(WWDJ)) 回分式晶析装置を用いて種々の検討を行った結果について述べる。また、多形や純度に及ぼす影響についても言及する。

第3章では、粒径の均一な結晶を連続的に製造することを目的として、ミリリットルスケール連続式晶析装置を開発し、結晶化を試みた結果について述べる。

第4章では、核発生のタイミングを分子レベルでコントロールし、より高度な晶析操作を行うために、マイクロ波照射下での冷却晶析を行った結果について述べる。

第2章 ウォールウェッター (Wall Wetter/Double-Deck Jacket (WWDJ)) 晶析装置を用いた粒径と多形の制御

2.1 緒言

晶析は様々な化学品や医薬品等の生産に多用される分離精製技術であるが、晶析の重要性は所望の特性を持つ結晶を製造する技術であることである。晶析操作後の工程に着目した場合、一般に濾過性が良く乾燥しやすい結晶が望まれる。微結晶を多く含むスラリーは、微結晶が濾材の細孔や結晶間の空隙に堆積し目詰まりを引き起こしやすい。したがって、濾過しやすい結晶としては、微結晶の少ない比較的大きな結晶が有利である。

通常、微結晶は2次核の生成に由来する場合が多い。2次核とは過飽和な結晶懸濁液の中で、結晶同士の衝突や缶壁あるいは攪拌翼との衝突、結晶の摩耗などに起因して発生する結晶核のことで、粒径分布を広くする要因の一つに挙げられる¹⁸。2次核由来の微結晶を発生させないためには、精密な温度制御を行ったり⁶、多量の種晶を添加する⁷等、過飽和度を低く維持することが重要であるが、工業スケールでの晶析では、晶析槽内を均一にコントロールする事が難しく、突然発生した微結晶への対処が困難である。

微結晶の原因となる2次核を発生させない努力も重要だが、一方で発生してしまった微結晶を逐次取り除くことができれば、粒径の揃った大きな結晶が得られると期待される。晶析中に発生した微結晶を取り除く手段として、Fig. 2-1に示すような外部循環型晶析装置がある²²。本装置では晶析装置内のスラリーの中で微結晶を多く含む懸濁液を外部に抜き出し、パイプ内を流通中に熱により微結晶を溶解除去する。このような装置は微結晶を除去するためには有効であるが、ポンプやパイプなど複雑なラインを確実に洗浄し、配管の継ぎ目などに汚染物が残留していないことを証明するのが難しいことから、わずかな異物の混入も許されない医薬の製造などには適用できない。

Shanらは、溶液散布翼ウォールウェッターと上下2段に分かれたウォータージャケットを備えた内部循環型の晶析装置 (WWDJ晶析装置) を開発し、アス

パラギン酸結晶の粒径分布改善に有効であることを示してきた^{23, 24}。

この章では、WWDJ晶析装置の様々な温度特性評価を行い、装置の制御システムを開発して、より高度な温度制御を実現した結果を述べる。さらに、それを用いてグリシンの結晶化を行い、粒径及びその分布、結晶多形、結晶純度に及ぼす影響について検討した結果について述べる。

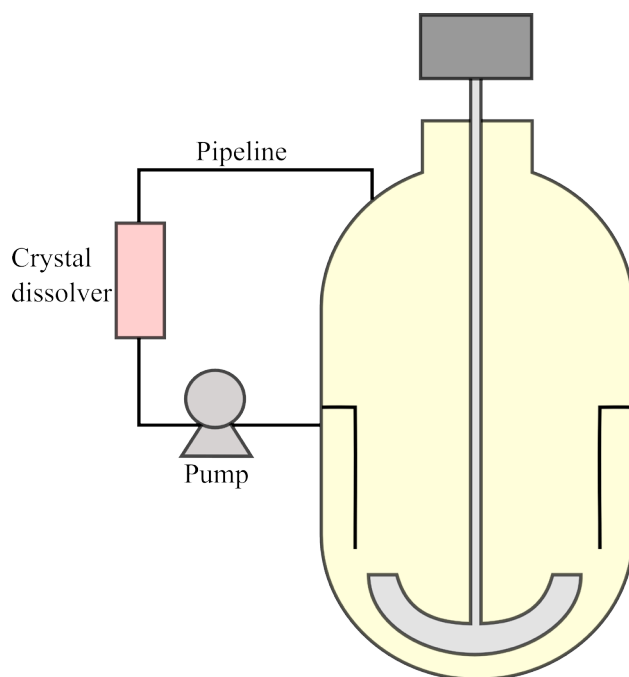


Fig. 2-1 The crystallizer equipped with an externally circulated fines dissolver

2.2 実験

2.2.1 実験装置

Fig. 2-2に本研究で用いたWWDJ晶析装置および、ウォールウェッターの概要を示した。本装置は、上下2段に別れたウォータージャケットを持つガラス製晶析装置であり、晶析槽の内壁を別々の温度にコントロールすることができる。この装置を用いた通常の冷却晶析では、下部ジャケットに冷水を循環させて晶析を行う。下部ジャケットに覆われた部分が晶析部分であり、容量は約1.7 Lである。攪拌軸の下端にはプロペラタイプの攪拌翼を、中段にはウォールウェッターを取り付けた。ウォールウェッターは断面がJ形の金属板をV字型に固定したものであり、回転による遠心力で溶液を汲み上げ、上端から晶析装置

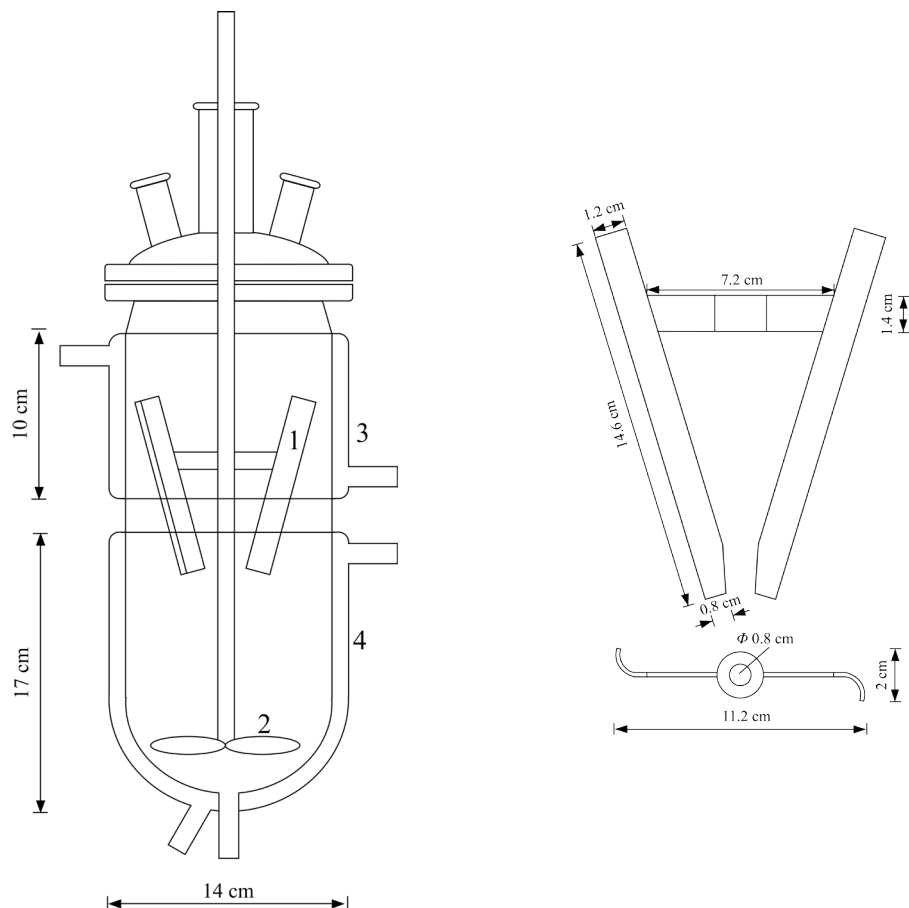


Fig. 2-2 Schematic diagrams of a newly developed crystallizer and the Wall Wetter.

の上部内壁に散布する。上部ジャケットに所定温度の温水を循環させておくと、散布されたスラリーが内壁を伝い落ちる間に加熱され、微結晶が溶解除去されると期待される。

Fig. 2-3に、本装置の写真を示した。この写真では、パイプ形ウォールウェッターを用いて青色の色素を溶かした水を上部内壁に散布している様子を示している。また、ガラス製晶析装置を固定するために、専用の金属枠を作製した。この枠には、攪拌用モーターを取り付けるポールと、晶析器を安全に傾けて内部スラリーを回収できる仕組みが備わっている。

Fig. 2-4に周辺機器を含む装置全体の概要を示した。加熱ジャケットに温水

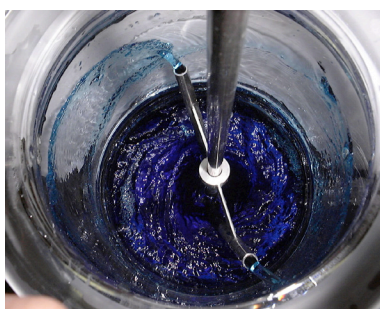


Fig. 2-3 Photographs of the WWDJ crystallizer, in which, a pipe-shape Wall Wetter was used as a solution sprinkling device.

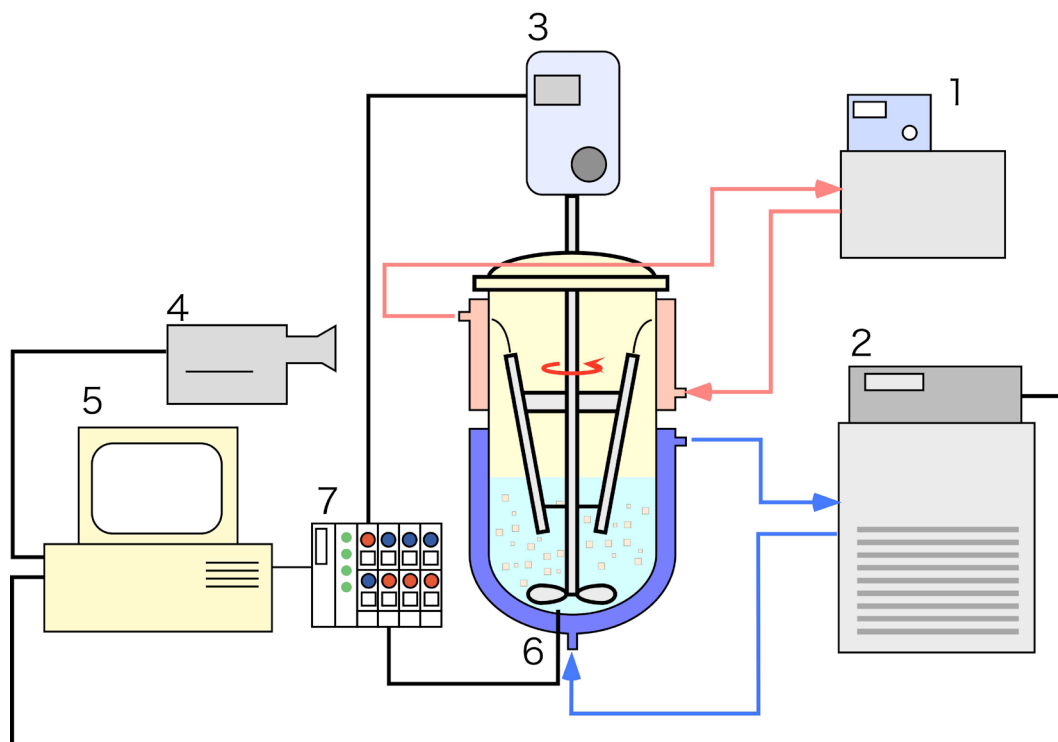


Fig. 2-4 Total system of the WWDJ crystallizer. 1: heating water bath, 2: cooling water bath, 3: motor, 4: digital video camera, 5: personal computer, 6: thermocouple, 7: modular fieldbus system

を循環させる装置として、恒温循環水槽（東京理化器械製NTT-2200）を用いた。冷却ジャケットに冷水を循環させる装置として、RS-232Cポートを有し、外部から設定温度をコンピューターで制御可能な冷却恒温循環水槽（NESLAB製 RTE-740）を用いた。ウォールウェッターを駆動する攪拌モーターとして、回転数をアナログ電圧で外部から制御することができ、回転数およびトルクを出力可能なモーター（東京理化器械製 MAZELA Z-1210）を用いた。晶析装置内部の温度は、晶析槽下部から差し込んだ熱電対にて測定し、それらのデータ及び攪拌モーターとのアナログ信号の入出力には、データ処理装置（WAGO I/O 750シリーズ）を用いた。本データ処理装置は、Ethernetを介してコンピューターと通信するフィールドバスモジュール（WAGO 750-342）と目的に応じて追加する各種モジュールから構成される。本研究では、10bit 4ch アナログ入力モジュール（750-467）及び、10bit 2ch アナログ出力モジュール

(750-550)、熱電対入力モジュール(750-469)を使用して、晶析槽内の温度管理と攪拌モーターの制御を行った。

晶析槽内での結晶の析出など、目視で確認できる変化を記録するために晶析槽の様子をデジタルビデオカメラ(SONY DCR-TRV50)を使用した。動画記録では、録画用テープの録画時間の制限があるため、IEEE-1394ケーブルを介してコンピュータに接続し、設定時間毎に静止画像を取り込むことで、晶析槽内の可視的变化を記録した。

2.2.2 制御プログラム

本装置を有効に運転するためには、装置内部の温度管理、冷却恒温槽の温度、攪拌速度のコントロールが不可欠である。本研究で使用した恒温槽は一定温度で維持するタイプの機器であるので、直線的に一定速度で冷却する場合、連続して恒温槽の設定温度を変更しながら精密な温度制御を行わなければならない。また、前節で述べたとおり、ウォールウェッターの回転速度は、スラリーの処理量及び上部ジャケットにおける溶液の温度上昇に直接影響を及ぼすため、重要なパラメーターである。そこで本研究ではそれらを1台のコンピュータで処理するために、専用の制御プログラムを作製した。

制御用コンピュータとしては、Apple社製ノート型パソコンを用いた。冷却恒温槽との通信には、RS232C規格のケーブルをUSBに変換するアダプタを介して、コンピュータに直接接続した。溶液温度と回転数・トルクのモニタリングおよび、攪拌回転数の制御にはオートメーション用バスモジュールを介してEthernet経由で接続した。また、デジタルビデオカメラからのデータの取り込みにはIEEE1394ケーブルを用いて直接コンピュータと接続した。

制御ソフトの作製には、RealSoftware製Realbasicを使用した。恒温槽用リアル通信用モジュールおよび、温度取り込み用IP通信モジュールを作製し、それらを統合したソフトを完成させた。Fig. 2-5に本研究のために作製した制御ソフトの画面を示した。温度や攪拌速度、カメラからの映像をモニタ上で確認することができる。冷却恒温槽の温度制御では、時間を変数とした数式を入

力する欄を作り、そこへ各時間での設定温度を表現した数式を入れることにより、連続的な温度制御が可能となるようにした。また、1秒ごとに取得した設定温度、溶液温度、回転数などの数値を、自動的にテキスト形式で保存する機能を持たせた。

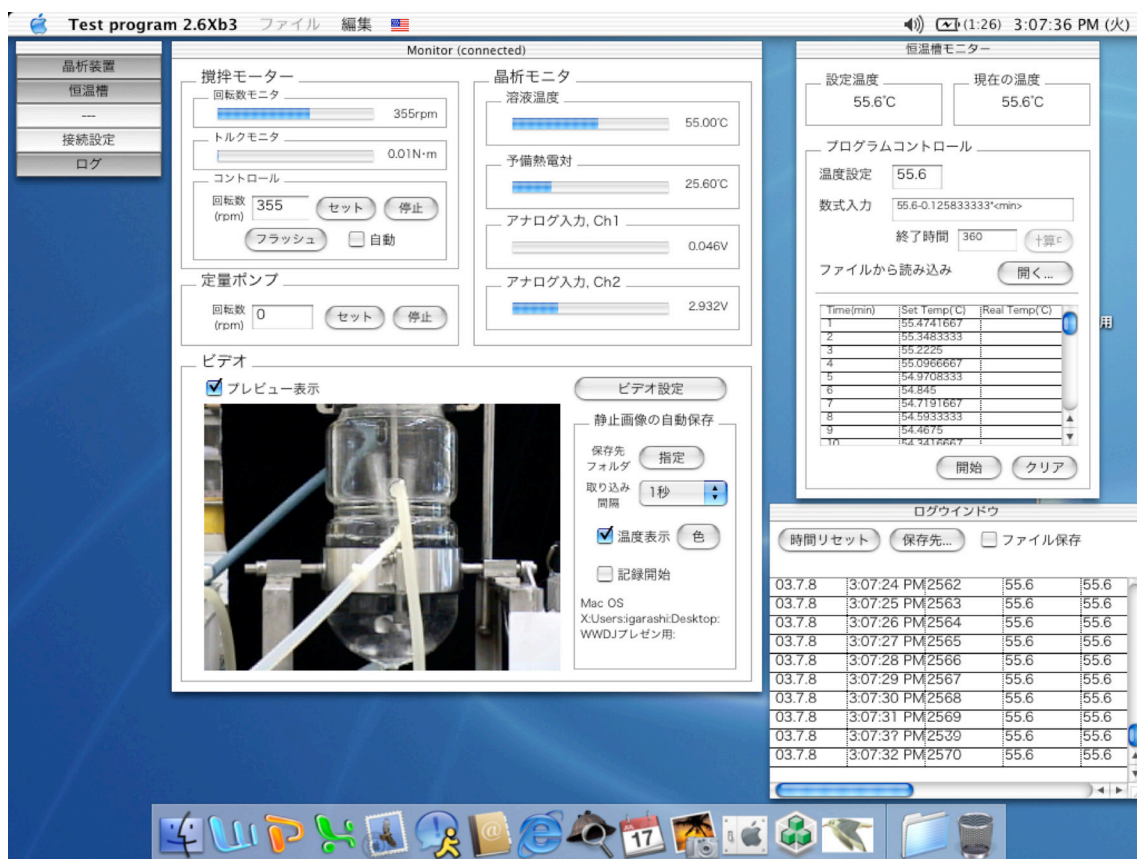


Fig. 2-5 Computer software for control of the WWDJ crystallizer

2.2.3 実験方法

2.2.3.1 試薬

グリシン及びその他のアミノ酸として和光純薬製の特級のものを使用した。溶媒には、Barnstead製の超純水製造装置Nanopure diamondにて精製した超純水を使用した。

2.2.3.2 グリシン溶液の結晶化

グリシン425 gを純水1320 gに加え、ホットプレートスターラー上で70℃に加熱しながら、完全に溶解させた。溶液の体積は温度により変化するが、濃度は25℃において250 mg/mL-solutionとなる。予め、上部ジャケット及び下部ジャケットの温度を55.6℃に設定しておき、グリシン溶液を全量注入した。溶液温度がジャケット温度と同じ55.6℃になるまでゆっくり攪拌した。

溶液温度が55.6℃に達した後、上部ジャケット温度は一定とし、下部ジャケット温度を一定速度で冷却して晶析を開始した。内部の溶液温度が25℃に達したら冷却を停止し、晶析槽内のスラリーを全てプラスチック製ビーカーに回収した。結晶は吸引濾過により回収した。このとき結晶間に残存した母液が乾燥して結晶同士が固着しないように、吸引したまま速やかにメタノールを結晶に散布し洗浄・脱水した。1時間以上吸引した後、30℃にて一晩乾燥させた。

得られた結晶は、光学顕微鏡にて写真を撮影した。結晶の粒径分布を調べるため、37 μm ～2000 μm の孔径の異なる14種のふるいを用いた。回収した結晶を一番孔径の大きなふるいに仕込み、ふるい振盪機を用いて全量ふるい分けした。各ふるい上に残った結晶の重量を測定し、重量基準のヒストグラム粒径分布および累積粒径分布を決定した。

グリシンには、 α 、 β 、 γ の3種の結晶多形が知られている²⁵⁻²⁷。 α 晶は飽和水溶液の穏やかな蒸発により、四角両錐形の大きな単結晶として成長する。 β 晶は飽和に近い水溶液にエタノールを加えると針状晶として析出する。 γ 晶は等電点から離れたpHの水溶液を徐冷すると、c軸方向に伸びた三角錐の三角柱状晶が得られることがわかっている。本実験で得られた結晶多形を区別するために、粉末X線回折装置（リガク製Miniflex）を使用した。

2.2.3.3 不純物存在下におけるグリシンの結晶化と結晶中の不純物含量の分析

不純物としてL-ロイシンを含む溶液からグリシン冷却晶析を行い、結晶純度に及ぼす晶析操作の影響について検討した。グリシンの重量の4%に相当する量のL-ロイシンを溶液に添加し、55.6℃から25℃まで、60, 120, 180, 240分

かけて冷却した。結晶は濾過により回収、乾燥させた。得られた結晶を正確に純水に溶解させ、結晶1 mgに含まれるL-ロイシンの量をHPLCにより測定した。結晶に含まれるL-ロイシンの量は非常に微量であるため、o-フタルアルデヒドでラベル化し、蛍光法（励起波長：340 nm, 蛍光波長：450 nm）により検出した²⁸。

2.3 結果と考察

2.3.1 ウォールウェッターによる液の散布速度の測定

本品析装置では不要な微結晶を含むスラリー溶液をウォールウェッターにより、上部内壁に散布して加熱溶解除去する。従って、ウォールウェッターによる溶液散布速度は本装置の微結晶溶解能力を決定する上で重要なパラメーターとなる。散布量が少ない場合、加熱壁を伝って落ちる間に、少量のスラリーが多くの熱を吸収するので、溶液温度が上昇し微結晶が効果的に溶解除去されると期待される。一方、溶液を散布する量は、単位時間あたりの微結晶処理量と考えることもできる。大量に散布した場合、処理量は増えるが上部内壁において必要な温度まで加熱されず、微結晶が溶解されない可能性がある。従って、スラリー処理量と加熱部における温度上昇は二律背反な関係にあり、適切な条件で本装置を運転する必要がある。

そこで、Fig. 2-6に示すガラス製容器を使用して、ウォールウェッターによる溶液散布量を正確に求める実験を行った。この容器は2重構造となっており、

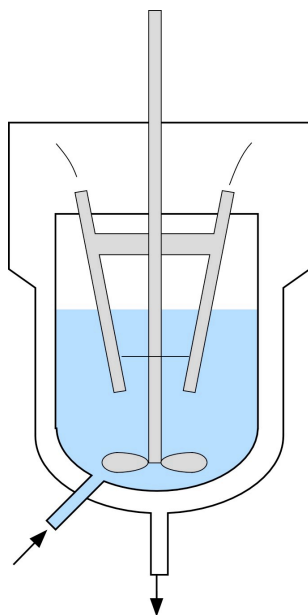


Fig. 2-6 Apparatus for measurement of sprinkling rate with Wall Wetter

内槽はWWDJ装置の晶析部と同じ形状となるように設計した。底部横側から、直接内部に液を一定速度で供給しながら、ウォールウェッターを回転させて、溶液を外槽部分に散布する。散布された溶液は装置底部から排出する。

この装置を用いて、内槽の水位が所定位置で維持されるような回転数に調節した。水位が一定になるような回転数を見つけたら、単位時間あたりに外槽から排出される液の量をメスシリンダーを用いて計測し、その回転数における溶液散布速度を算出した。

Fig. 2-7にウォールウェッターの回転速度と液の散布速度の関係を示した。ウォールウェッターの回転数が280 rpm以上になると、液が上部に散布されることがわかる。溶液が散布されるには、液にかかる重力による下向きの力と釣り合う以上の遠心力が必要となる。そのため、ある特定の回転数までは液の上昇が起こらなかったと考えられる。回転数の増加とともに液の散布速度は直線的に増加したが、350 rpmを超えると散布速度の上昇が緩やかになっており、450 rpm以上ではあまり増加しないことわかった。ウォールウェッターはV字型をしており、下端すなわち水面の中心付近から液を汲み上げている。その様子を観察すると、回転速度が上がるほど水面に回転軸を中心とした渦がで

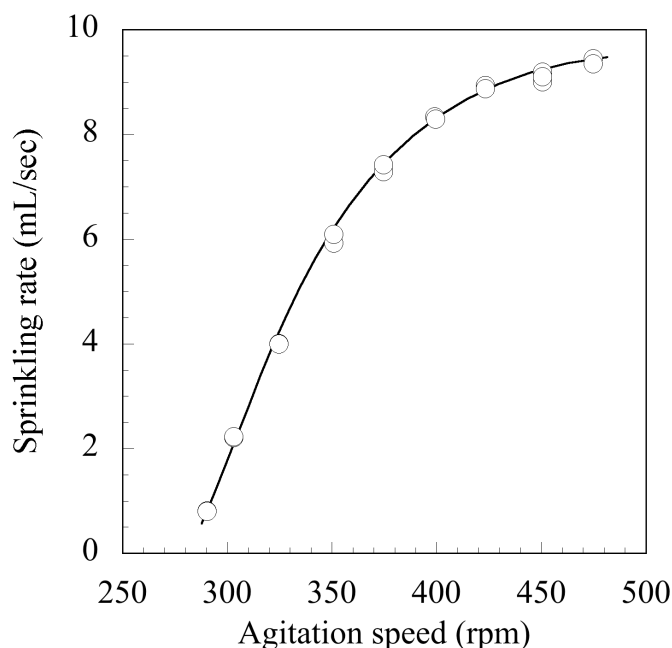


Fig. 2-7 Sprinkling rate of the solution by Wall Wetter at various agitation speeds.

きていた。高い回転数では中心の渦が大きくなり、結果として中心部分の水位が下がって外側の水位が上がっていた。そのため、V字型の下端で接する水の量が減り、散布速度の上昇が緩やかになったと考えられる。また、ウォールウェッターが回転すると、水槽の液も同じ方向に回転する。液の回転が速くなると、回転しているウォールウェッターとの相対的な速度の差が小さくなり、汲み上げられる液の量が増えなくなった可能性もある。本実験では、モーターの最高回転速度の制限により、さらに高回転での実験は行っていないが、より高回転にするとウォールウェッターの下端が全く液に接しなくなって液が散布されない状態になると予想される。

2.3.2 上下ジャケット温度と内部温度の関係

WWDJ晶析装置では、下部ジャケットに冷水を、上部ジャケットに温水を流し、ウォールウェッターを回転させた状態で運転を行う。ウォールウェッターで上部内壁に散布された液は、加熱されて下部の晶析部に戻る。上部で与えられた熱は、下部の晶析槽で冷却ジャケットを介して排出される。従って、晶析部の温度は上部ジャケットと下部ジャケットの温度の間の温度となる。晶析部の温度は、晶析中の溶液温度であるため、溶液の過飽和度を決定する重要な制御因子である。そこで、上部ジャケットと下部ジャケットを様々な温度に設定し、晶析部の温度がどのようなになるかを実測した。Fig. 2-8は、ウォールウェッターの回転数を355 rpmとし、下部ジャケット温度(T_L)を固定して、上部ジャケット温度(T_H) と晶析槽温度(T)の関係をみたものである。横軸は上部ジャケットの温度、縦軸は晶析部の温度を示している。下部ジャケット温度は5, 10, 15, 20, 25 °Cに設定した。どの下部ジャケット温度でも晶析部の温度は、加熱ジャケットの温度に直線的に比例しており、その勾配は同じであることがわかった。また、この実験データから、横軸を冷却温度、縦軸を晶析部の温度にしてプロットしてみても、同様に冷却温度に比例する、同じ勾配の直線が得られた。

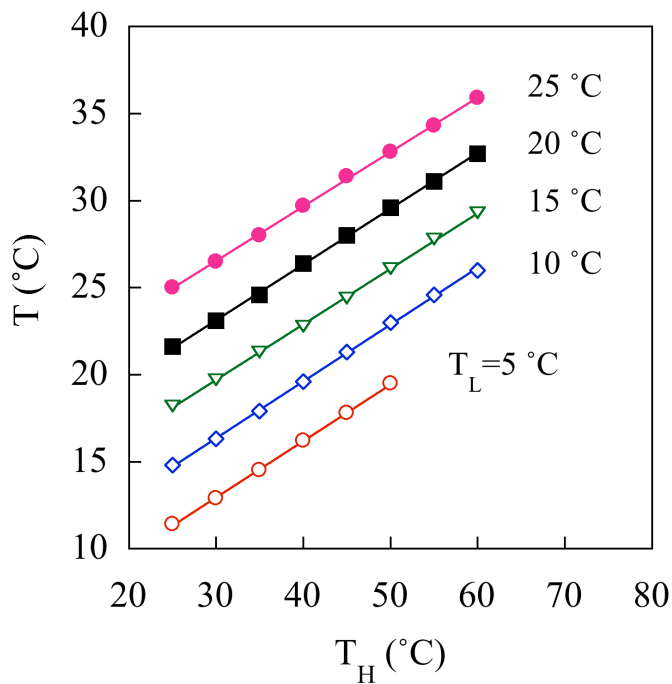


Fig. 2-8 Relationship between the solution temperature and the heating temperature at various cooling temperatures.

これらの T_H に対する勾配と T_L に対する勾配を整理すると、得られた実験点はすべて、

$$T = 0.32T_H + 0.68T_L \quad \dots (1)$$

という式で表現できることがわかった。ここで、両項の係数の和すなわち0.32と0.68の和は1である。すなわち、ウォールウェッターの回転数が355 rpmであるときは、晶析部の溶液温度に対し、加熱ジャケットが32%、冷却ジャケットが68%寄与していることがわかる。この寄与率は上下ジャケット内壁面の伝熱能力に依存するものであり、2.3.3項で詳述する。

さて、晶析温度に及ぼす加熱ジャケット温度の寄与率を X とすると、式 (1) は次のように表すことができる。

$$T = XT_H + (1 - X)T_L \quad \dots (2)$$

X は晶析温度を決定する重要なパラメーターであるが、ウォールウェッターの回転速度、すなわち液の散布速度に依存すると予想される。そこで、下部ジャケット温度を5℃に固定したときの、晶析部温度の回転数依存性を測定した。上部ジャケット温度は、25、35、45℃に設定した。得られた結果をFig. 2-9に示す。晶析温度 T は、回転数の増加とともに上昇し、高回転数になると温度の上昇が緩やかになることがわかった。このような挙動は、Fig. 2-7に示した回転数と溶液散布速度の関係に類似している。従って、溶液の温度上昇は溶液の散布速度と深い関係があることがわかる。

ところで、式(2)を X について整理すると、以下のように表すことができる。

$$X = \frac{T - T_L}{T_H - T_L} \quad \dots (3)$$

Fig. 2-9より、 T 、 T_H 、 T_L と回転速度の関係が決定しているので、それぞれの点で寄与率 X の値を算出した。Fig. 2-10に寄与率 X と回転数の関係を示した。加熱ジャケット温度25、35、45℃での値は全て同じ曲線上にのることがわか

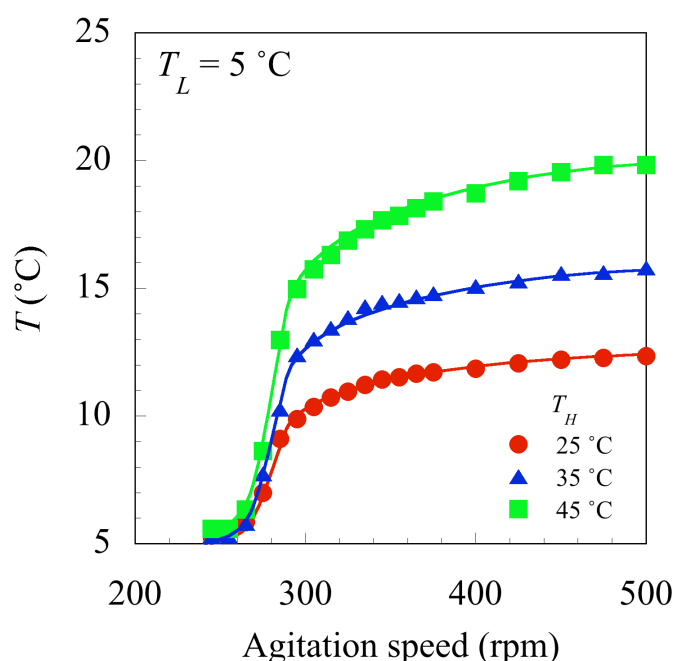


Fig. 2-9 Effect of the agitation speed on the temperature of the solution.

る。この結果は、寄与率 X は加熱ジャケット温度 T_H に依存せず、回転数のみに依存していることを示している。従って、任意の回転数での寄与率 X を測定しておけば、その回転数においてどのような上部及び下部ジャケット温度の組み合わせでも晶析温度 T を決定することができる。

本実験の測定範囲では、回転数を N とすると、 X は以下の式で経験的に表現できた。

$$X = \frac{0.387(N - 269.7)}{15.52 + (N - 269.7)}$$

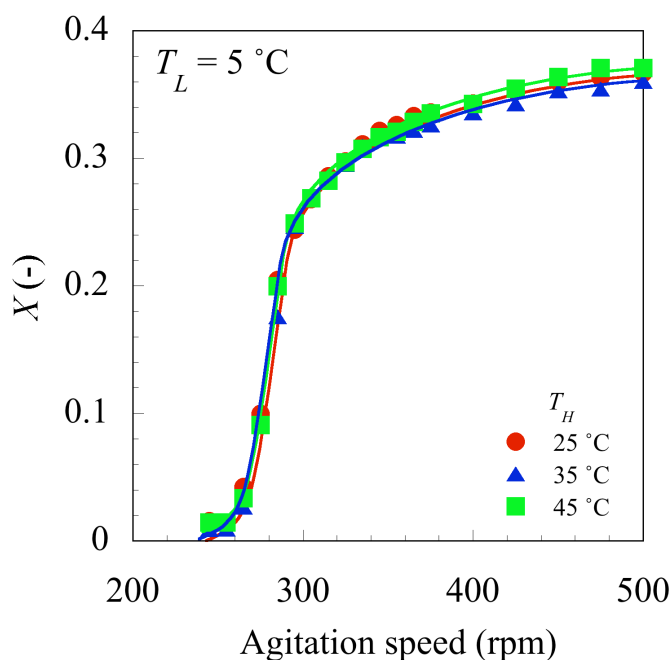


Fig. 2-10 Effect of the agitation speed on the contribution factor X .

• • • (4)

2.3.3 下部ジャケットの総括伝熱係数を用いた詳細な温度制御

2.3.2では、回分冷却晶析操作において重要なパラメーターの一つである、晶析部における溶液温度 T について、上下ジャケット温度とウォールウェッターの

回転数で表現できることを示した。一方、WWDJ晶析装置では、不要な微結晶を加熱部の内壁で溶解除去することが重要である。従って、加熱部に散布された溶液が内壁を伝って冷却部に戻るまでにどれくらい加熱されたのかを把握し、制御することが必要である。なぜなら、上部での加熱が不十分な場合、加熱されても過飽和状態のままであり、微結晶の溶解除去は期待できず、上部で微結晶を溶解除去するためには、散布された溶液が未飽和となる温度まで加熱しなければ効果がないからである。

加熱されて冷却部に戻る液の温度を把握することは重要であるが、実験的に直接測定することは難しい。散布された溶液は加熱部内壁を伝って流れ落ちるため、その温度を測るために加熱部内壁表面に熱電対を取り付けても、液の温度を測定しているのか、加熱部壁面の温度を測定しているのか、区別がつかないためである。

そこで、装置全体の熱収支を考慮することにより、加熱壁面での溶液の温度を間接的に算出することにし、装置内での熱の流れに着目しながら、WWDJ晶析装置の挙動を見直す。まず、(1)溶液がウォールウェッターにより散布されて加熱壁面から熱を受け取り、温度が上昇する。(2)加熱された液が晶析部に戻り、晶析溶液全体が加熱される。(3)晶析部の溶液の熱が、下部冷却ジャケットを通して外部に排出される。晶析中は、(1)～(3)に示した熱の流れが常に起きている。しかも、一定の上下ジャケット温度、回転数の条件では晶析部の温度は変化しないため、定常状態にあると見なすことができる。そのような条件では、上部ジャケットから入る熱 Q_H と下部ジャケットから出る熱 Q_L の量は等しい。すなわち、

$$Q_H = Q_L$$

・・・(5)

ここで Q_H は、散布された溶液が単位時間あたりに受け取った熱量を示しており、

$$Q_H = FC_P(T_h - T_c) \quad \dots (6)$$

と表される。 F 、 C_P 、 T_h 、 T_c はそれぞれ液の散布速度($\text{mL} \cdot \text{sec}^{-1}$)、溶液の熱容量($\text{cal} \cdot ^\circ\text{C}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$)、散布されて加熱された溶液の温度($^\circ\text{C}$)、晶析部の温度($^\circ\text{C}$)である。この式は、温度 T_c の溶液がウォールウェッターにより単位時間あたり F だけ散布され、温度 T_h まで上昇することを表している。従って、 Q_H がわかれば、加熱された溶液の温度 T_h を計算することができる。

しかし、 Q_H は測定が困難であるため、式(5)に示すように Q_H と同じ値をもつ Q_L を測定することにした。 Q_L は晶析部の溶液の熱が下部ジャケットから排出される熱量を示しており、

$$Q_L = UA(T_C - T_L) \quad \dots (7)$$

で表される。ここで、 U は総括伝熱係数($\text{cal sec}^{-1} \text{ m}^{-2}$)、 A は伝熱面積(m^2)である。 T_C および T_L は測定可能なので、 UA がわかれば Q_L を求めることができる。

UA の決定は、実際に本装置の下部ジャケットにおける伝熱特性をみることで行った。ジャケット温度 T_L を固定して、温度 T_C の溶液を晶析槽に入れると、溶液温度 T_C は時間とともに下り、やがて T_L に等しくなる。外部ジャケットとの間の熱の移動は、ジャケットおよび溶液間の温度差に比例する。従って、その時の温度変化は式(7)を書き換えて以下のようなになる。

$$\frac{dT_C}{dt} = \frac{UA}{C_P V} (T_C - T_L) \quad \dots (8)$$

ここで、 C_P および V はそれぞれ、溶液の熱容量($\text{cal} \cdot ^\circ\text{C}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$)、溶液の体積(mL)である。

まずウォールウェッターの回転数を355 rpm、下部ジャケットの温度を 5°C

に設定し、70℃に加熱した純水1700 mLを一気に晶析装置内に投入した。そして、晶析部の液温の変化を記録した。この実験では、ウォールウェッターによる上部ジャケット壁面への溶液散布も行った状態で伝熱係数を測定した。ウォールウェッターには攪拌翼としての効果もあるため、伝熱特性に影響を及ぼすからである。また、上部ジャケットは液温が室温より高い場合は冷却部として、室温より低い場合は加熱部として作用するため、下部ジャケットのみの伝熱を測定していることにならない恐れがある。そこで、上部ジャケットの寄与をなくすため、常に晶析部の溶液温度と同じ温度の恒温水を上部ジャケットに循環させ、上部ジャケットからの熱の出入りが無い状態で測定を行った。そのような条件で実験を行った結果の一例をFig. 2-11に示す。これは、晶析槽内部の溶液と、加熱ジャケットに循環させた溶液の温度の経時変化を示したものである。図からわかるように、上部ジャケット温度と溶液温度に差がないため、上部ジャケットからの熱移動が全くない状態で伝熱係数の測定が行えた。

式(8)の微分方程式を解くと、

$$\ln(T_C - T_L) = \left(\frac{UA}{C_P V}\right)t + \ln(T_{C0} - T_L)$$

・・・(9)

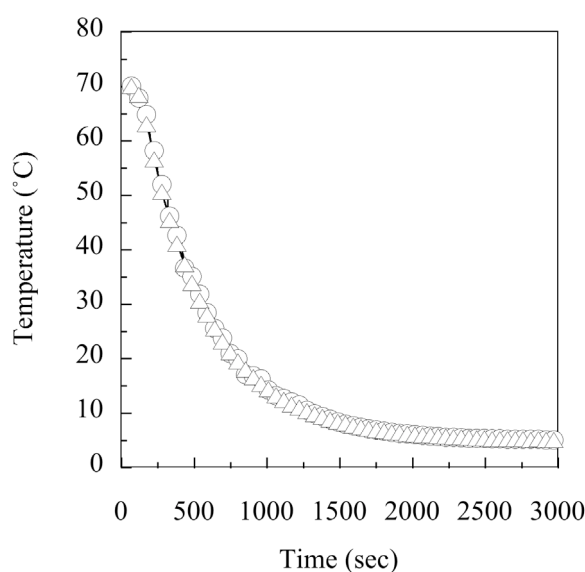


Fig. 2-11 Change in temperature of the upper jacket (○) and water in the crystallizer (△).

となり、 t に対して $\ln(T_C - T_L)$ をプロットし、得られた直線の傾きから UA を決定することができる。

Fig. 2-11の結果を式(9)に合うようにプロットし直したものをFig. 2-12に示した。溶液の C_P と体積 V がわかっているので、直線の傾きから UA を算出することができる。この図では、 UA は $3.71 \text{ cal sec}^{-1}$ であると算出された。 UA は総括伝熱係数と伝熱面積の積であるが、攪拌下で水面が乱れている状態での伝熱面積を測定することは困難であったため、 U と A に分離せず、 UA として得られた値を温度制御に用いることにした。

上部ジャケットに対しても同様に UA の測定を行った。Fig. 2-13は上部及び下部ジャケットの測定の解析結果を示している。下部ジャケットの勾配が上部ジャケットよりも大きいことから、下部ジャケットの伝熱の方がよいことがわかる。これらの直線の傾きから算出された上下ジャケットの UA はそれぞれ 1.64 および $3.71 \text{ cal sec}^{-1}$ であった。そして、それらの UA の和に対するそれぞれの割合は、 30.7% と 69.3% であった。この割合は、式(1)で示したそれぞれのウオー

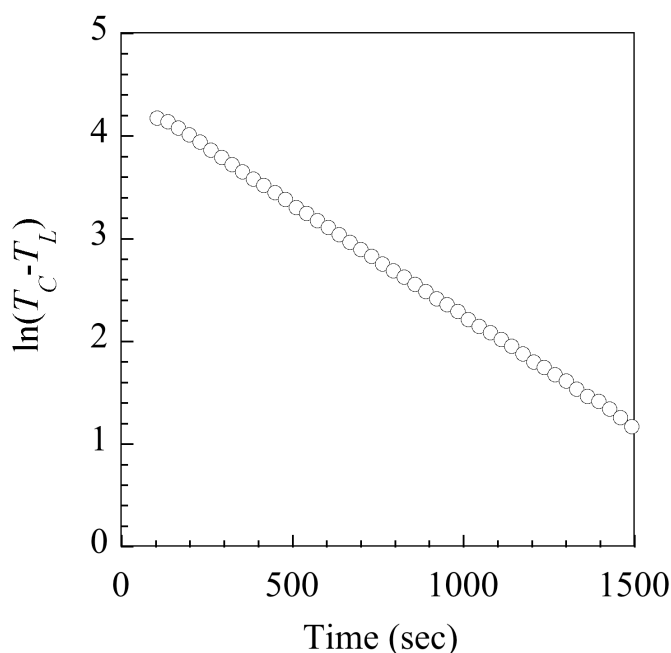


Fig. 2-12 Determination of UA of lower jacket.

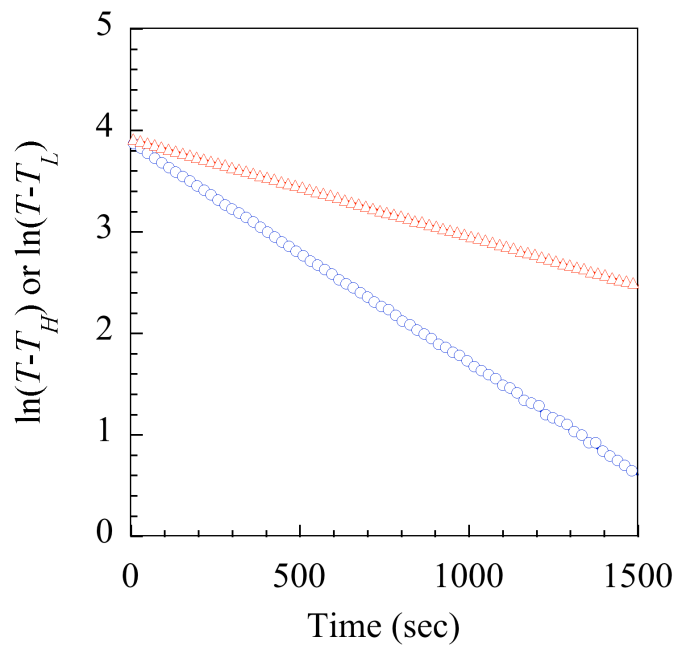


Fig. 2-13 Determination of UA of the upper jacket (\triangle) and the lower jacket (\circ).

タージャケットの寄与率とほぼ一致している。従って、晶析温度に及ぼす加熱温度の寄与率 X とは、加熱ジャケットと冷却ジャケットの伝熱能力の比であることが、 UA の詳細な測定を行うことによって確認できた。Fig. 2-14に上部ジャケットの UA のウォールウェッター回転速度依存性を示した。上部ジャケットの UA は回転速度とともに増大することがわかった。上部ジャケットの UA は X を決定する上で重要であるが、Fig. 2-10からわかるように、 X は上下ジャケット温度に依存せずウォールウェッター回転速度によって決まるパラメーターであるため、ある回転速度で上下ジャケット温度をそれぞれ設定して晶析槽内部の溶液温度を測定すれば UA の決定が可能である。そして、 T , T_H , T_L の値を式(2)に代入すれば容易に X を決定することができる。

一方、溶液が上部加熱壁を通る間に上昇した温度については、式(5), (6), (7)より、次式の関係が得られる。

$$UA(T_c - T_L) = C_P F(T_h - T_c) \quad \dots (10)$$

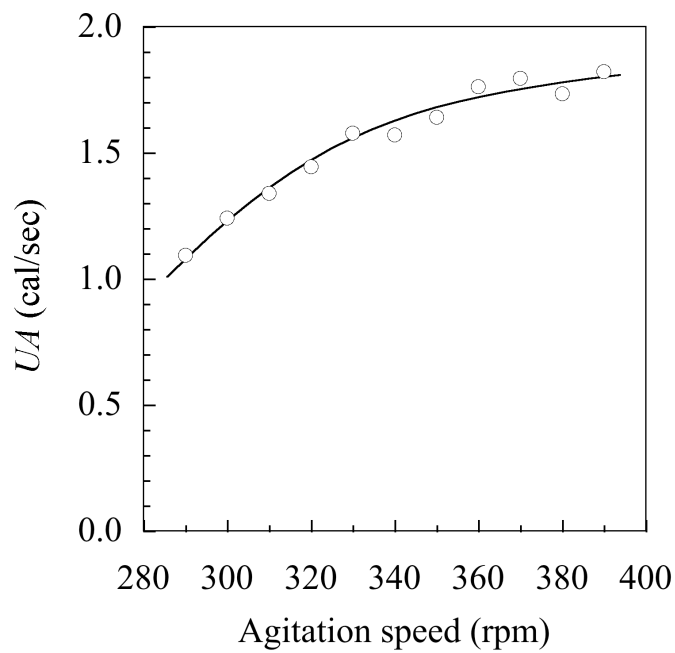


Fig. 2-14 Effect of agitation speed of the Wall Wetter on the value of UA .

ここで、 UA は下部ジャケットの総括伝熱係数と伝熱面積の積である。晶析部の溶液が何°C加熱されたかを、

$$\Delta T = T_h - T_c \quad \dots (11)$$

と表すと、 T_H および T_L を導く式が得られる。

$$T_H = T_c - \left(\frac{1-X}{X}\right) \frac{\Delta T C_p F}{UA} \quad \dots (12)$$

$$T_L = \frac{T_c - XT_H}{1-X} \quad \dots (13)$$

式(12)および(13)は、ある晶析温度 T_c において、加熱部で ΔT だけ温度を上げたい場合、 T_H および T_L を何 $^{\circ}\text{C}$ に設定すればいいかを示している。例えば、攪拌速度355 rpm、晶析温度 25°C で 7°C の温度差をつけたい場合、上部ジャケットを 55.6°C 、下部ジャケットを 10.3°C にすればよい。これらの式を利用することで、適切な条件で晶析を行うための正確な温度制御が可能となった。

2.3.4 グリシンの晶析挙動に及ぼす冷却速度の影響

冷却温度を制御しながらグリシンの結晶化を行い、WWDJ晶析装置の微結晶溶解効果が粒径分布に及ぼす影響について検討した。

まず、上部ジャケット温度を 55.6°C 、下部ジャケット温度を 10.3°C に設定し、 70°C のグリシン溶液を投入して355 rpmで攪拌して晶析を行った。前項で述べたように、この条件では内部の晶析溶液の温度は 25°C となる。Fig. 2-15に晶析部の溶液の温度変化を示した。予め、上下ジャケットに恒温水を循環させているため、急速に温度が減少していることがわかる。このように所定の温度まで急激に冷やす冷却方法を自然冷却と呼ぶ。約45分で溶液の温度は、目標値である 25°C に達した。攪拌速度に依存するパラメーターである X と、下部ジャケットの UA 値から算出した条件で、目的の温度に調節できることが確認された。

しかし、析出した結晶は全て晶析部内壁に固着してしまい、分散したスラリーとして回収できなかった。晶析槽の様子を撮影した写真をFig. 2-16に示す。析出したグリシン結晶は底部に厚みのある凝集体として固まっており容易に剥がすことはできず、再度水を入れて加熱して晶析槽の結晶を全て溶かさざるを得ない結果となってしまった。晶析槽壁面でスケーリングが起きた原因として、本装置では上下ジャケットの恒温水で温度制御を行うため、下部ジャケットには晶析温度よりもずっと低い恒温水が流れていることが考えられる。本実験では、下部ジャケット温度を 10.3°C にした状態で、 70°C の飽和溶液を投入したため、冷却部内壁で過飽和度が高くなり、特に表面近傍で核発生と成長が

起こったと考えられる。

次に恒温槽の温度を制御しながらゆっくりと冷却する晶析操作を試みた。急激な冷却は冷却部壁面へのスケーリングを起こすため、コンピューターで時間毎に設定温度を変化させた。上下ジャケット温度を55.6 °Cに設定した状態で、70 °Cで溶解させたグリシン水溶液を投入した。溶液温度がジャケットの温度

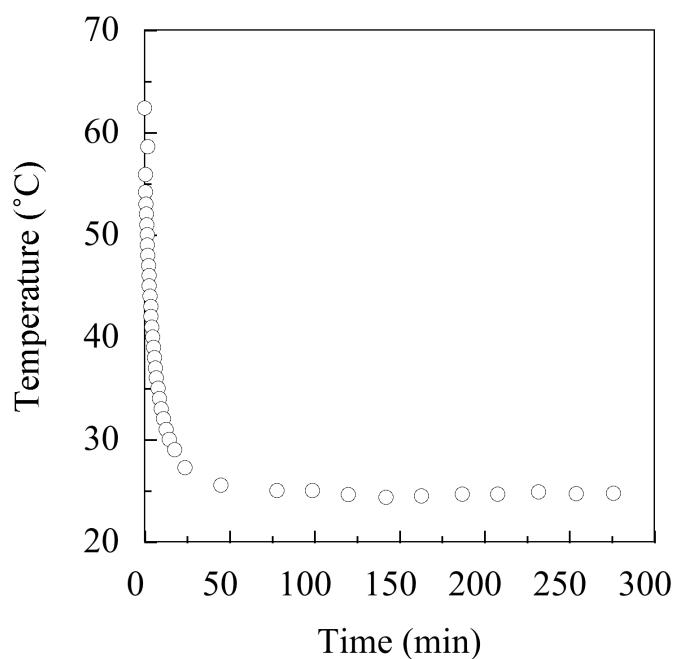


Fig. 2-15 Change in the solution temperature in the crystallizer on natural cooling mode.



Fig. 2-16 The photographs of the crystallizer observed from bottom (left) and top (right)

すなわち55.6 °Cに達してから冷却を開始した。比較のためのコントロール実験では、下部ジャケットのみを使用して冷却操作を行い、ウォールウェッターによる溶液散布も行っていない。晶析装置内の溶液温度の経時変化をFig. 2-17に示した。WWDJ晶析装置では上部ジャケットと下部ジャケットの温度で晶析温度が決まるにもかかわらず、連続的に温度を変化させる条件でもコントロール実験と同様に温度制御がうまくできていることがわかる。

急速冷却で晶析操作を行った場合と異なり、温度をゆっくり下げて晶析を行うと、WWDJ晶析装置を用いても結晶のスケーリングは起こらなかった。晶析終了後の晶析槽内部の写真をFig. 2-18に示したが、急速冷却（写真：左）とは異なり、WWDJ晶析装置による制御冷却（写真：右）では内壁へのスケーリングが観察されず、結晶を全て回収することができた。また、コントロール実験でもスケーリングは起こらなかった。

回収した結晶の光学顕微鏡写真をFig. 2-19に示した。従来型回分晶析装置であるコントロール実験で得られた結晶（写真左）に比べて、WWDJ晶析装置で得られた結晶は微結晶が少なく、サイズが大きくなっていることがわかった。

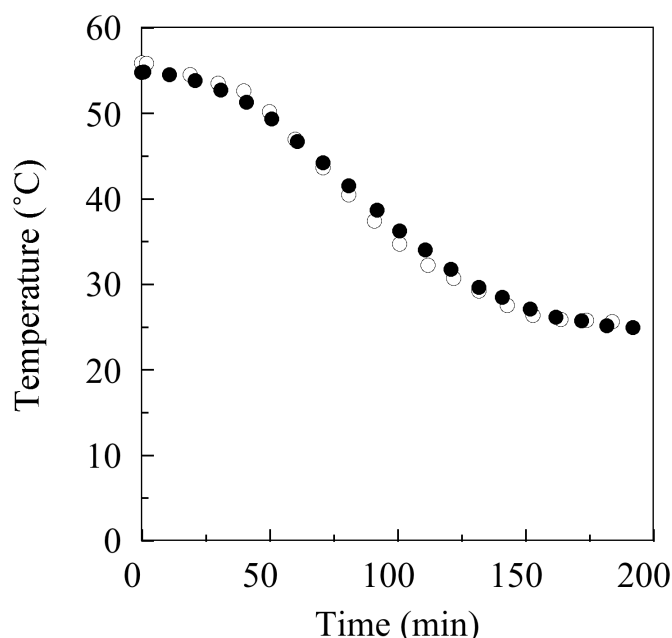


Fig. 2-17 Temperature profiles of the solution on controlled cooling mode. (○): WWDJ crystallizer, (●): conventional crystallizer.

得られた結晶の粒径分布を調べるために、篩い分けにより各サイズの結晶の重量を測定した。

結晶の粒径分布をヒストグラムで表したものをFig. 2-20に示す。篩い分けにより分級しているため、結晶のサイズは柱状結晶の幅に相当する。コントロール実験である従来型晶析装置では、サイズの分布が広がっており、297-420 μm の結晶の量が最も多かった。それに対し、WWDJ晶析装置で得られた結晶は、分布が狭く710-1000 μm の結晶が最も多かった。ただし、ヒストグラムでは各階級のサイズ幅が一定ではなく、実際の分布を正確に表現することができない。そこで、各サイズの篩を通過した全結晶量を用いて表す累積重量分布



Fig. 2-18 Photographs of inside of the crystallizer. Left: natural cooling mode, Right: controlled cooling mode.

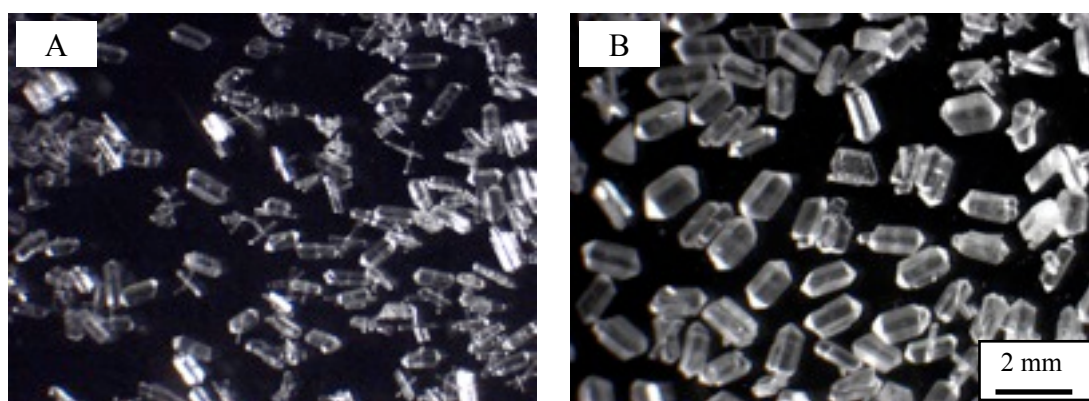


Fig. 2-19 Glycine crystals obtained with the conventional crystallizer(a) and WWDJ crystallizer(b).

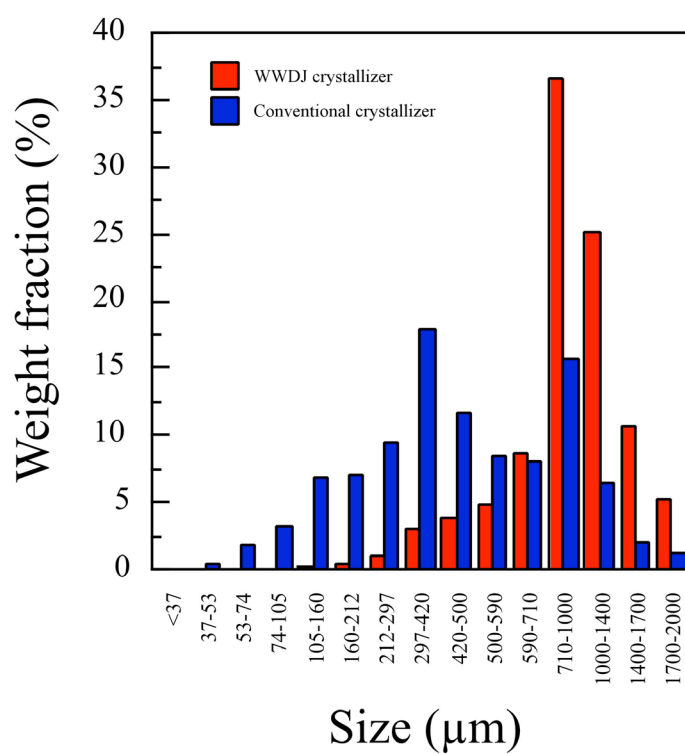


Fig-2.20 Size distribution of glycine crystals obtained with the WWDJ crystallizer and the conventional crystallizer.

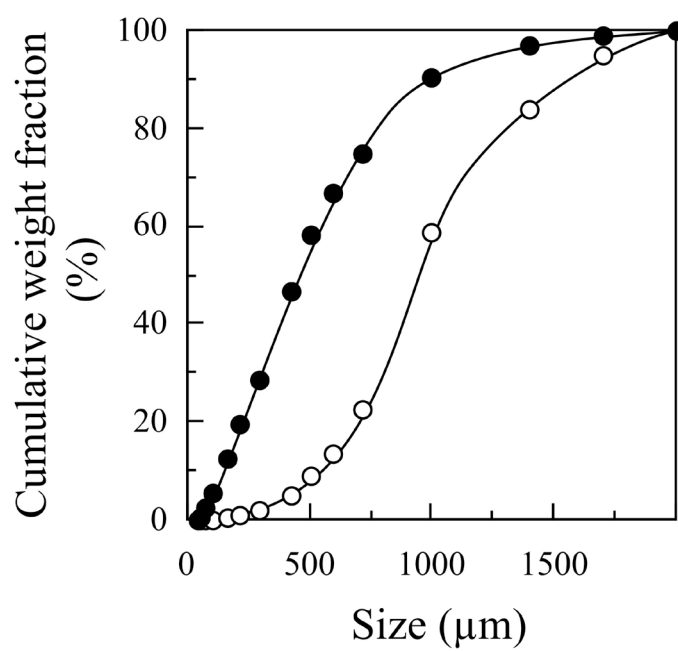


Fig. 2-21 Cumulative size distribution of glycine crystals obtained with the WWDJ crystallizer(○) and the conventional crystallizer(●).

で示したものをFig. 2-21に示した。WWDJ晶析装置を用いて結晶化を行った場合、曲線が大粒径側にシフトしており、微結晶が除去され、その過飽和分が大きな結晶の成長に使われたことがわかる。

2.3.5 グリシンの結晶多形に及ぼす影響

前項では冷却速度を遅くすることによってスケーリングが抑制でき、大きな結晶が得られたことを述べた。次にさらに冷却速度を遅くして結晶化を行った。Fig. 2-22は、晶析中の温度の経時変化を示している。図中のAは2.3.4項で述べた実験の温度プロファイルであり、Bはさらに冷却を遅らせたものである。この実験でも、スケーリングは起こらず結晶を全て回収することができた。また、WWDJ晶析装置を用いた実験では、微結晶が劇的に減少しており、晶析終了直前ではほとんどの結晶が晶析槽の底面付近で流動していた。一方、ウォールウェッターを起動しないコントロール実験では微結晶が多く残っており、結晶が溶液全体に分散している様子が観察された。

得られた結晶の光学顕微鏡写真をFig. 2-23に示した。写真(a)及び(b)は、冷却Bで晶析した時のコントロール実験とWWDJ装置で得られた結晶を示している。これまでの実験で得られたグリシン結晶の形は柱状のものであったが、WWDJ晶析装置を用いて、冷却プロファイルBで結晶化したときは円錐形の結晶が得られた。写真(a)からわかるように、同じ冷却操作でも微結晶溶解操作を行わないコントロール実験では柱状結晶が得られた。

これらの違いは、多形が異なるからではないかと考え、得られた結晶を粉碎し粉末X線回折を測定した。グリシンには α 、 β 、 γ の3種の多形が報告²⁹されている。 α 形³⁰は飽和水溶液の穏やかな蒸発により得られ、四角両錐形の大きな単結晶として成長する。単斜晶系で、対象中心をもつ空間群 $P2_1/n$ である。 β 形²⁶は飽和に近い水溶液にエタノールを加えると、針状晶（単斜晶系、 $P2_1$ ）として晶出する。 γ 形²⁷は等電点から離れたpHの水溶液を徐冷すると得られる。六方晶系で、空間群は $P3_1$ または $P3_2$ である。

得られた粉末X線回折をFig. 2-24に示した。どちらもWWDJ晶析装置を使って得られた結晶の回折結果であるが、(a)は冷却プロファイルAで晶析したものの、(b)はそれより遅い冷却Bで晶析したものである。これらを比較すると回折パターンが異なっており、別の多形が析出したことがわかった。ケンブリッジ結晶構造データベースに登録されているグリシンの単結晶構造から計算された

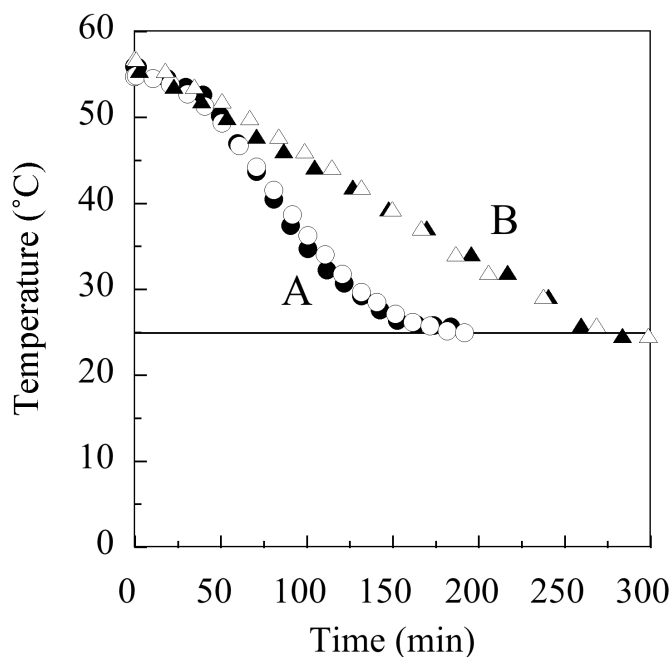


Fig. 2-22 Two different temperature profiles of the solution cooling. Open symbols: the WWDJ crystallizer, closed symbols: the conventional crystallizer.

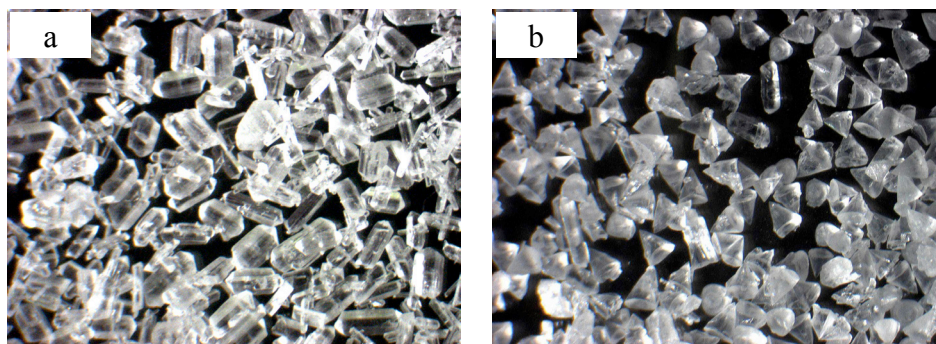


Fig. 2-23 Optical micrographs of glycine crystals obtained by Profile B in Fig. 2-22. (a): Conventional crystallizer, (b): WWDJ crystallizer

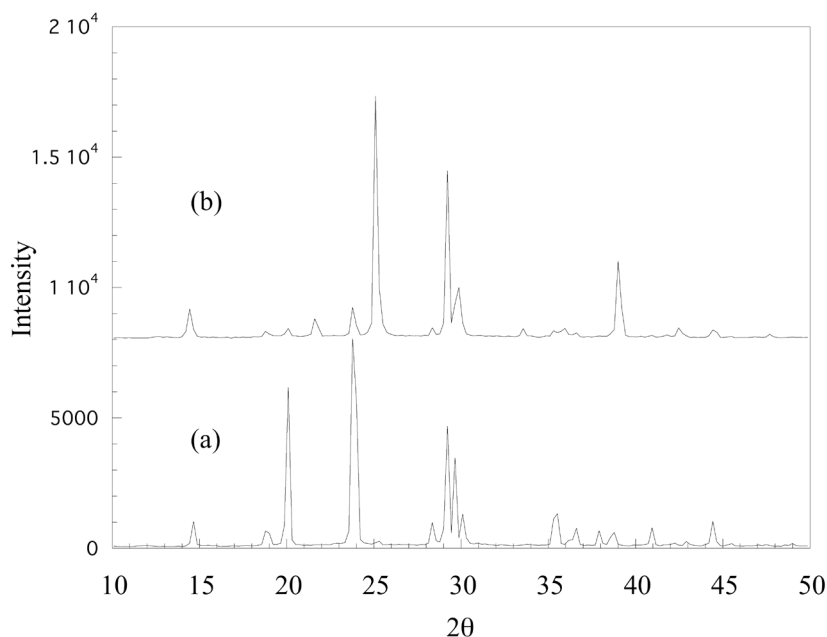


Fig. 2-24 XRD pattern of glycine crystals obtained by cooling profile A(a) and B(b) in Fig. 2-22

結果によると、 α 形は 19.0° , 20.1° , 23.9° , 29.9° に、 γ 形は 21.8° , 25.3° に、他の多形と区別するのに用いることのできる特徴的な回折ピークを持っている。得られたグリシン結晶の回折結果から、冷却プロファイルAで晶析したものは α 形、冷却プロファイルBで析出したものは γ 形であることがわかった。また、図には示していないがWWDJ装置を用いないコントロール実験では全て α 形が得られた。

グリシンの3つの多形の中で最も安定な多形は γ 形であり、 α 形が準安定、 β 形が不安定晶であることが知られている。Fig. 2-25に各温度における α 形と γ 形の溶解度を測定した結果を示した。 γ 形より α 形の方が溶解度が高いことがわかる。一般に、準安定晶と安定晶がある物質を結晶化すると、先に準安定晶が析出し、その後で安定晶が析出する傾向がある。これは、「オストワルドの段階則³¹⁾」と呼ばれている。そして準安定晶の晶析中に安定晶が発生した場合、安定晶の成長に伴う溶液濃度の低下により準安定晶が溶解し最終的に全て

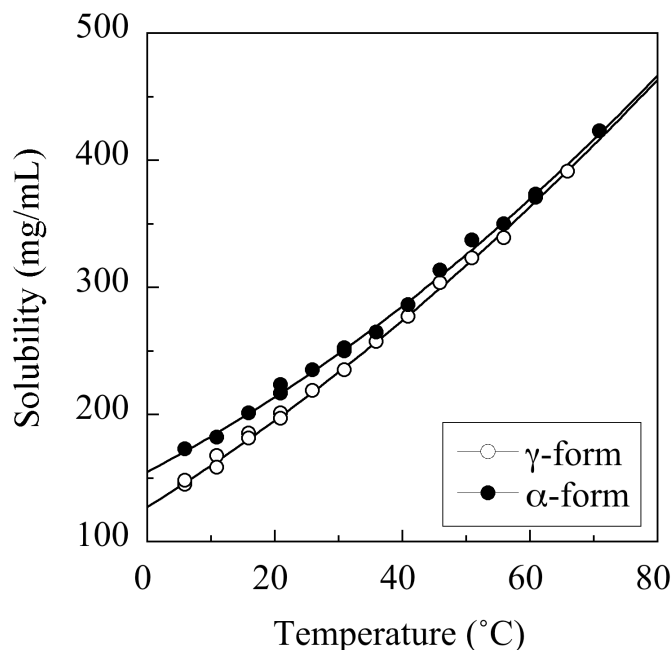


Fig. 2-25 Solubility curves of glycine crystals. (○): γ -form, (●): α -form

安定晶に変化する「溶媒媒介転移」が起こる。グリシンの場合は、 γ 形の溶解度の方が低いので、 α 形と γ 形が共存した場合、溶媒媒介転移により時間とともに γ 形に転移していく。

本実験において、WWDJ晶析装置を用いて冷却プロファイルBで晶析したときでも、結晶析出初期の結晶は α 形であることがわかった。従って、どの条件でも初期は α 形が析出したが、プロファイルBで冷却したときだけ γ 形が出現し、その後の溶媒媒介転移によって γ 形に転移したと考えられる。ここで、WWDJ晶析装置を用いて γ 形が得られた過程について、2段階のステップで考察する。

1つめは、安定晶である γ 晶の核が発生しない限り α 形から γ 形への転移は始まらないはずであるが、なぜWWDJ晶析装置を用いて冷却プロファイルBで晶析したときだけ γ 晶の核発生が起こったのかということである。この核発生のステップがなければ、結晶は α 形のままであり、その後の溶媒媒介転移も進行しない。この理由については、WWDJ晶析装置は溶液を高温の上部内壁に散布していることが原因の一つであると考えられる。Fig. 2-25に示した溶解度曲

線からわかるように、 α 形と γ 形の溶解度の差は温度が高くなるほど小さくなる。従って、WWDJ晶析装置では、高温にさらされたとき α 形と γ 形の核発生のしやすさにあまり差がなくなり、 γ 形も析出しやすくなったと考えられる。WWDJ晶析装置を用いても冷却プロファイルAで得られた結晶は α 形であった。しかし、粉末X線回折の結果をみると、 γ 形の特徴ピークのうち 21.8° のピークはないが、 25.3° のピークは非常に小さいが検出されている。 25.3° 付近に α 形由来のピークはないため、これは γ 形が微量含まれていることを示唆している。従って、プロファイルAで冷却したときも γ 形の析出は起こったが、その量が非常に少なかったか、その後の転移が進む前に回収したため、回収したほとんどの結晶が α 形だったと考えられる。

2つめは、 α 形から γ 形への溶媒媒介転移である。WWDJ晶析装置で γ 形が得られた理由の一つとして、WWDJ晶析装置の加熱溶解機構が溶媒媒介転移を促進することが考えられる。溶媒媒介転移は、安定晶の成長に溶質分子が消費されて溶液濃度が減少し、準安定晶の溶解度以下の濃度になることによって準安定晶が溶解することによって進行する。通常は、結晶成長速度は溶解速度に比べて遅いため、転移進行中の溶液濃度は準安定晶の溶解度とほぼ同じになる。従って、転移の推進力は、ある温度における安定晶と準安定晶の溶解度差であり、安定晶の成長が転移過程の律速段階となる。一方、WWDJ晶析装置では、ウォールウェッターにより溶液が持ち上げられて結晶が加熱されるため、一定温度の時に比べて多くの結晶が溶解される。この時、溶解度の高い準安定晶の方が多く溶けるはずである。上部で結晶が溶けて濃度が高くなった溶液は、下の晶析部に流れ落ちて安定晶の結晶成長に消費される。上部で強制的に溶解された溶液が入ってくるので、転移の推進力、すなわち安定晶の過飽和度は2つの多形間の溶解度差以上になっていると推察できる。上部では準安定晶の溶解が促進され、下部では安定晶の成長が促進されるため、結果としてWWDJ晶析装置を用いた晶析では、安定晶への溶媒媒介転移が加速されたと考えられる。

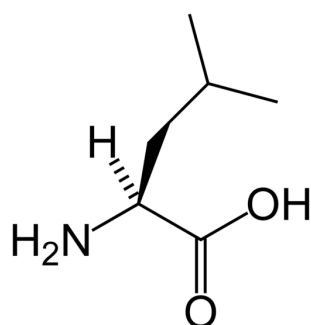


Fig. 2-26 Structural formula of L-leucine

2.3.6 グリシン結晶の純度に及ぼすWWDJ晶析装置の効果

晶析操作を分離手段として用いる場合、あるいは機能性結晶の製造に用いる場合、いずれも得られた結晶の純度が問題となる。タンパク質のような大きな分子からなる結晶の場合、結晶中の分子間の空隙は50%以上である例も少なくなく、溶媒や低分子化合物が自由に入り込める余裕がある。一方、比較的小さな分子の有機化合物では、溶質分子の様々な官能基が隣接する分子間で相互作用し、より密なパッキング構造を形成するので、多くの場合、結晶の純度は高いと考えられる。しかし、結晶化条件によっては表面への不純物分子の付着や、結晶化母液そのものの取り込みなどにより純度低下が起こる場合もある。

本項では、他のアミノ酸を含む溶液からグリシンの晶析を行い、WWDJ晶析装置による結晶純度向上効果の有無について検討した結果について述べる。不純物としてL-ロイシンを用い、結晶化時間の影響や、粒径分布が及ぼす影響などについて検討した。

L-ロイシン (Fig. 2-26) は分子量131.17のアミノ酸で、疎水性アミノ酸に分類されている。水にやや難溶であり、20 °Cの水100 gに対する溶解度は、2.38 gである。

実験に先立ち、グリシン結晶に含まれる極微量のL-ロイシンを分析するためのHPLCの検量線を作成した。Fig. 2-27は、濃度既知の純粋なL-ロイシン水溶液の検量線を示している。本実験では、o-フタルアルデヒドでラベル化し、蛍光法で検出しているため、0.01 mg/mL以下であっても良好な直線関係が得ら

れた。しかし、実際にはグリシン結晶に含まれるL-ロイシンを定量するのが目的であるため、大きなグリシンのピークがL-ロイシンのピークに干渉する恐れがある。そこで、1 mg/mLのグリシン水溶液にL-ロイシンを溶解させ、同様の方法でHPLCによる分析を行った。得られたクロマトグラムをFig. 2-28に示す。約2.7分の所に大きなグリシンのピークが現れたが、非常に高濃度で検出限界を超えているためピークが振り切れている。未反応のo-フタルアルデヒドもこのピークの中に含まれる。L-ロイシンのピークは大きなグリシンのピークの裾に鋭く現れることがわかった。L-ロイシンのピークエリアを計算して濃度と

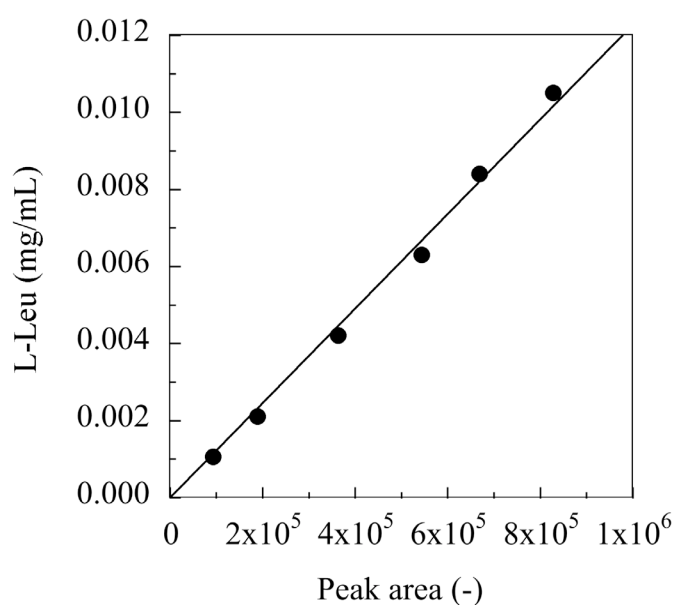


Fig. 2-27 Relationship between the concentration of L-Leu and its peak area measured by HPLC.

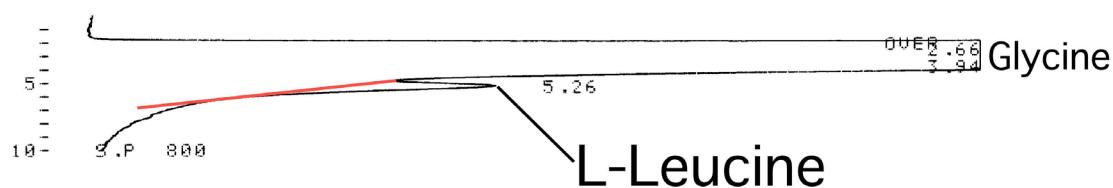


Fig. 2-28 HPLC chromatogram of L-Leu solution present in 1mg/mL glycine solution.

対応づける必要があるが、このような重なったピークの解析は、データ処理装置では困難であるため、クロマトグラムを画像ファイルとして保存し画像処理ソフトにより解析を行った。まず、グリシンとL-ロイシンのピークの境目から後方に接線を引いた。そして、その接線より上の部分をL-ロイシン由来の信号であると仮定して、面積を算出した。得られたエリアに対して、既知のL-ロイシン濃度をプロットしたものをFig. 2-29に示した。純粋なL-ロイシン水溶液を用いて作成した検量線に比べてデータにばらつきが見られたが、直線関係を得ることができた。図中には、さらに低濃度で分析を試みた結果も示した。0.0001 mg/mL以下の低濃度でも、直線関係が認められるため高精度の分析が可能であることがわかった。

グリシンに対して4 wt%に相当するL-ロイシンを添加した溶液からのグリシンの結晶化を試みた。55.6°Cから25°Cまでの冷却時間を60分、120分、180分、240分とし、WWDJ晶析装置を用いて晶析を行った。コントロール実験はWWDJ晶析装置の加熱溶解操作を行わない条件で同様の方法で行った。

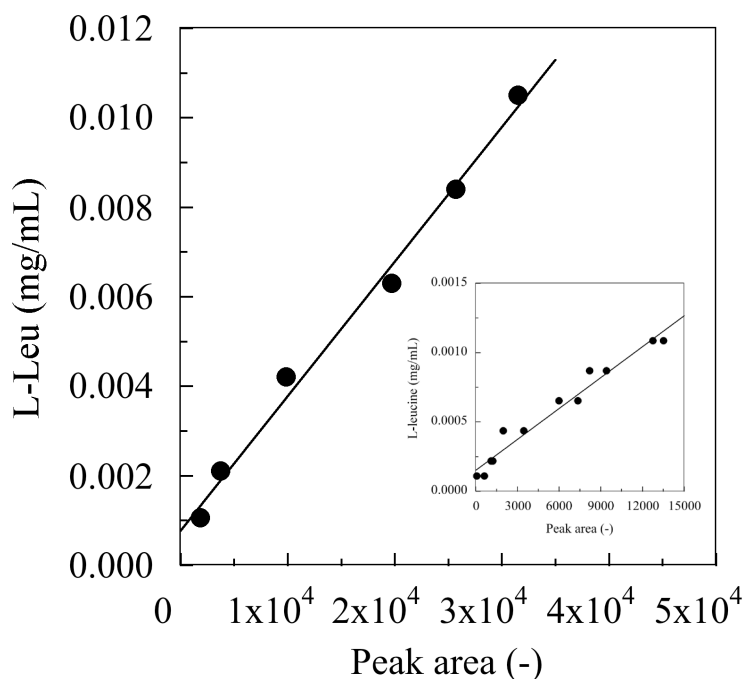


Fig. 2-29 Relationship between the concentration of L-Leu and its peak area measured by HPLC. L-Leucine was dissolved in 1 mg/mL glycine solution.

WWDJ晶析装置で得られた結晶1 mgに含まれるL-ロイシンの量をFig. 2-30に示した。グリシンに対して4 wt%のL-ロイシンを含む溶液から結晶化を行ったが、結晶に含まれるL-ロイシンの量は60分では0.23%、240分では0.05%だった。結晶にはほとんど不純物を取り込まれていないことから、グリシン結晶は不純物を取り込みにくいと考えられる。また、冷却速度を小さくすると、すなわち冷却速度を遅くするほど、不純物の量が減少することがわかった。一般に、結晶への不純物の取り込みは過飽和度が高いほど多くなる傾向がある。結晶成長による濃度低下に比べて温度低下に伴う過飽和度上昇が大きくなるため、冷却が速いほど不純物量が増加したと考えられる。

WWDJ晶析装置と従来型装置での不純物取り込み量の比較を行った。Fig. 2-31に120分および240分で得られた結晶について、結晶1 mgに含まれるL-ロイシン量を示した。コントロール実験と比べて、120分では22.5%、240分では30%の不純物が減少した。もともとコントロール実験でも不純物含量が少なかったため劇的な不純物含量の減少は確認できなかったが、WWDJ晶析装置を用いることにより20~30%の純度向上が達成できた。

WWDJ晶析装置が結晶純度向上に寄与した原因の一つとして、WWDJ晶析装置を用いると微結晶の数が減少し、大きな結晶が得られたことが挙げられる。

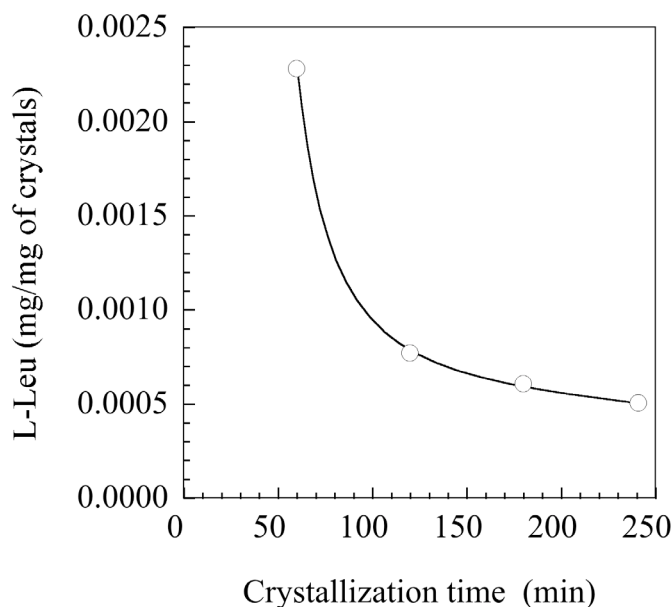


Fig. 2-30 L-Leu content in crystals obtained by WWDJ crystallizer.

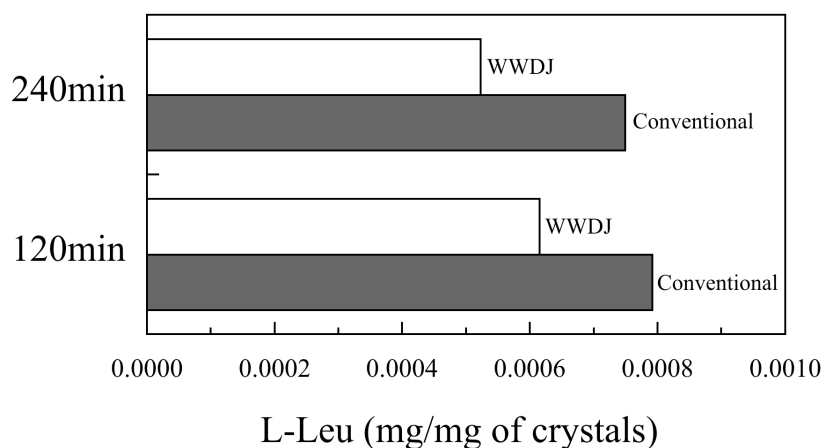


Fig. 2-31 Comparison of L-Leu content in the crystals obtained by WWDJ crystallizer and conventional batch crystallizer.

グリシン結晶に含まれていたL-ロイシンの量は、今回の実験で一番多く含まれていた60分の結果でも母液の比率の17分の1以下に減少していた。

Fig. 2-32に、240分かけて冷却して得られた結晶の粒径分布を示した。L-ロイシンを含む条件下でも、微結晶溶解機構を用いないコントロール実験に比べて、WWDJ晶析装置を用いると大きなサイズの結晶が得られた。単位重量あたりの表面積は結晶のサイズが小さくなるほど大きくなる。Fig. 2-33にふるい分けした結晶のそれぞれの画分に含まれるL-ロイシンの量を示した。サイズの小さな結晶ほど、単位重量あたりのL-ロイシン取り込み量が多い。大きなサイズの結晶で不純物濃度が上がっているのは、これらの画分には微結晶が集まってできた凝集物が一部含まれていたからである。

Fig. 2-34にこの結晶の粒径分布を面積比に換算して分布を作成したものを示した。ここでは、簡便のために結晶の形は球であると仮定して計算し、WWDJ晶析装置で得られた結晶の表面積を100%として表示している。コントロール実験で得られた結晶は粒径が小さいため、全体の表面積も大きくなり、分布の総和は151%となる。図からわかるように、WWDJ晶析装置で得られた結晶の方が全体の表面積が小さくなっており、その結果不純物の取り込みが減少したのではないかと考えられる。WWDJ晶析装置を用いることによって結晶に含まれ

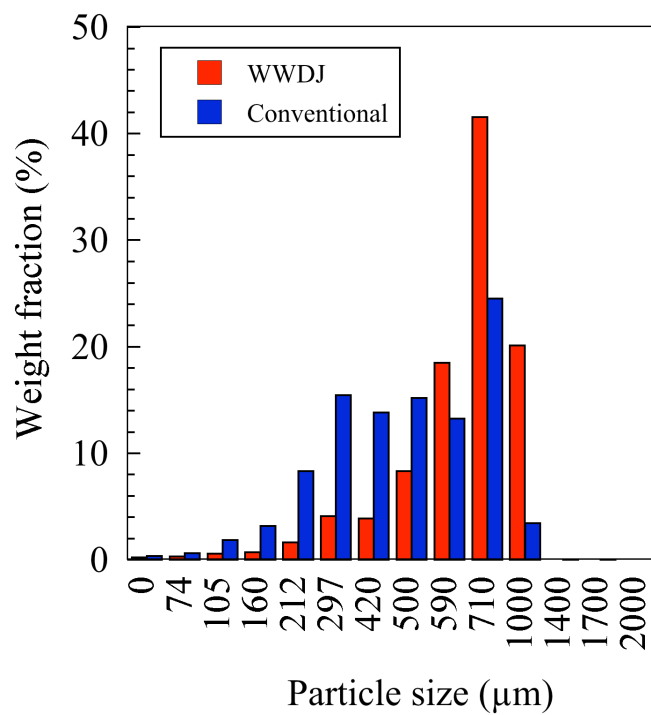


Fig. 2-32 Size distribution of the crystals obtained from the solution containing L-Leu with the WWDJ crystallizer (red) and the conventional crystallizer (blue).

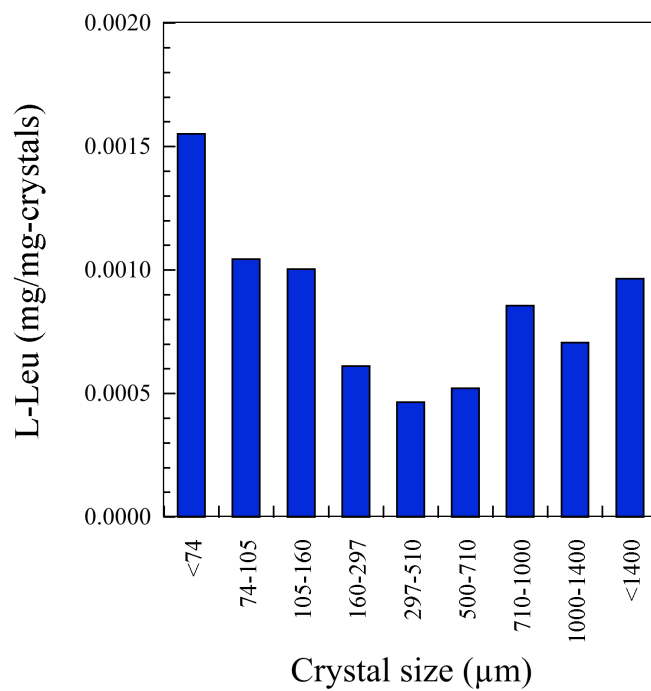


Fig. 2-33 L-Leu content in the crystals classified by sieving.

る不純物量が低下したもう一つの理由として、結晶の成長と表面の溶解が絶えず繰り返されることによって、結晶表面への不純物の付着が抑制されたことも考えられる。このメカニズムが実際に働いているかどうかについては、さらなる検討が必要である。

以上、WWDJ晶析装置の微結晶溶解除去効果は、不純物を吸着しやすい微結晶を減らすことによって全体の不純物取り込み量を減少させる効果があることがわかった。

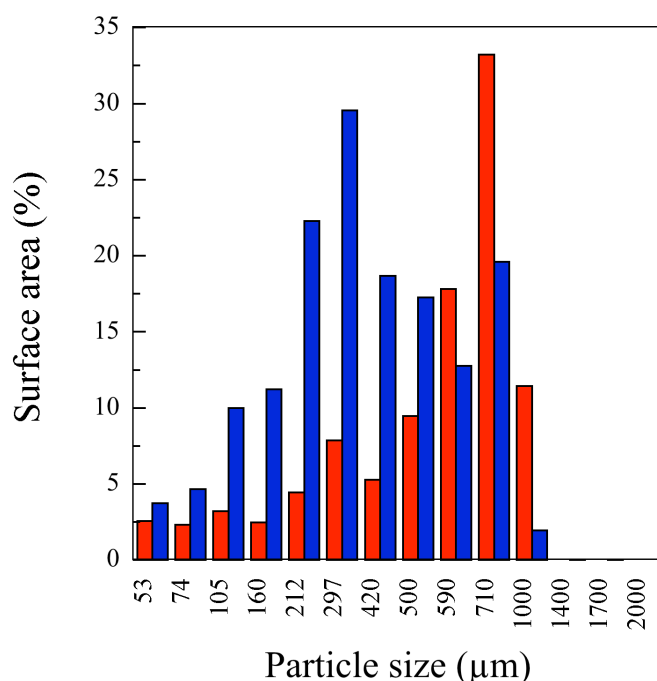


Fig. 2-34 Distribution of surface area of whole crystals obtained with the WWDJ crystallizer (red) and the conventional crystallizer (blue).

2.4 結言

本章では、WWDJ晶析装置の溶液散布特性や、伝熱特性を詳細に調べることで、微小な結晶を効果的に溶解除去できる装置を構築した。WWDJ晶析装置の特性として、晶析部の冷却面温度が低いため急激な冷却ではスケーリングを引き起こすトラブルが発生したが、温度制御を工夫することによって結晶の

固着を回避することに成功した。グリシンを用いた冷却晶析では、比較のための従来型回分晶析装置に比べ、微結晶の少ない均一な結晶が得られることを示した。また、冷却速度を操作すると異なる多形が析出することを発見し、これは、WWDJ装置の加熱溶解機構が溶媒媒介転移の促進に寄与していることにより説明できると考察した。WWDJ晶析装置の微結晶溶解効果により、結晶のトータルの表面積が減少するため、結果として不純物を含む溶液からの結晶化において純度向上が期待できることを示した。

以上のように、晶析操作に必要とされる様々な結晶特性の制御にWWDJ晶析装置は有効であり、今後の晶析工学の発展に貢献するものと期待される。

第3章 高速攪拌機を備えたミリリットルスケール晶析装置による貧溶媒晶析

3.1 緒言

晶析操作において、粒径や粒径分布、多形や結晶形状など様々な結晶特性を制御して、再現性よく結晶を製造しなければならない。特に工業生産規模の晶析では、製造ロット間で製品のばらつきを減らすだけでなく、同一ロットにおいても分布の幅が狭いことが望まれる。

例えば、粒径について考える場合、小さな結晶は比表面積が大きいため溶解が速いが、大きな粒子は比表面積が小さいため溶解が遅い。平均粒径が同じ粒子群であっても、粒径分布が狭い結晶と広い結晶では溶解特性に大きな違いが生じる恐れがある。従って、均一な粒径を持つ結晶を作ることは非常に重要である。

前章では、濾過性の良い均一で大きな結晶を得ることを目的として、WWDJ晶析装置を用い種々の検討を行った。大きな結晶は取扱が容易であり、多段階にわたる医薬品中間体合成ステップの分離精製過程で大きなメリットがある。しかし、最終製品である医薬品原薬の晶析においてはミリメートルオーダーの大きな結晶は望まれていない。医薬結晶は単独で処方されるのではなく、様々な賦形剤と混ぜられて打錠して錠剤化、あるいは造粒工程により顆粒化して製品となる。大きな結晶では均一な混合が難しく、錠剤ごとの有効成分の含量にばらつきがでてしまう。従って、そのような結晶についてはジェットミル等を用いた粉碎工程を経る場合が多い³²。

さて、近年の医薬化合物は構造が複雑化する傾向にあり、そのような物質の多くは水難溶性である^{33, 34}。現在開発されている医薬の40%以上は脂溶性あるいは水難溶性であると言われている^{35, 36}。医薬は体内で溶解して血中に移動し、患部で作用する。従って、体内で溶けることが大前提である。服用してからの血中濃度の経時変化を調べ、その医薬が体内に効率よく取り込まれたかをバイオアベイラビリティ（生物学的利用能）として評価する。また、経口薬

だけでなく注射剤においても結晶の溶けやすさは重要である。安定性の面から粉末としてアンプルに封入されている薬剤を、医療現場で水と混ぜて液体として注射することが多い。溶け残りの粉末が存在する状態で注射することはできないので、注射剤においても容易に溶けることが絶対条件である。

水難溶性化合物を少しでも水に溶けやすくするために、いろいろなアプローチが試みられている。化合物を硫酸基などの親水性官能基で修飾して水溶性を向上させる。カルボキシル基を持つ場合、ナトリウム塩などの状態で晶析させる。シクロデキストリンなどの親水性化合物で包接して溶解性をあげる³⁷⁻³⁹。アモルファスとして粉末化する⁴⁰⁻⁴³。これらの方法は物質の溶解度そのものを上げるという戦略である。

別のアプローチとしては、溶解速度を上げることが考えられる。例えば比表面積が大きくなるように結晶を微小化することである。一般に結晶の溶解速度は、

$$\frac{dc}{dt} = kA(c_s - c) \quad (1)$$

で表される。ここで、 A は結晶の総表面積、 c_s および C はそれぞれ溶解度と液相濃度である。式からわかるように、溶解速度は総表面積 A と、溶解度 c_s と溶液濃度 C との差に比例する。しかし、水難溶性化合物の溶解度は非常に低いため、十分な濃度差がない。従って、結晶を微粒子化して比表面積を大きくすることで溶解速度を上げる必要がある。

結晶を微粒子化するためには、より大量の核を発生させればよいと考えられる。結晶の粒径を10分の1にすると、体積は粒径の3乗に比例するため、一つの微粒子の体積は元の結晶の0.001倍となる。従って、同じ重量の物質をサイズが従来の10分の1の結晶として生産しようとする、核の個数を1000倍にすればよいことになる。すなわち、微結晶を生産するためには、核発生を促進する方法を考えなければならない。それと共に、均一な結晶を得なければならない。うまく大量の結晶核を同時に発生できても、晶析装置内で濃度や温度に不

均一が生じると、成長速度に分布が生じ、過剰に成長した結晶や成長が不足した結晶が現れる可能性がある。特に工業生産における実機スケールの晶析装置では、温度や濃度がどの部分でも同じであることはない。そのため、均一で微小な結晶を従来する方法で作るのは困難であると考えられる。装置内の温度や濃度を均一に維持するためには、装置のサイズそのものを小さくするしかない。

そこで、第3章では、装置内の状態を均一に保つことのできる、サイズの小さなミリリットルスケール晶析装置を考案した。本装置では、装置を小さくするだけでなく、核発生を促進させるため最高回転速度24,000 rpmの超高速攪拌機を装備した。本装置を用いて、有機化合物結晶の微粒子化について検討した結果について述べる。

3.2 実験

3.2.1 実験装置

Fig.3-1は本研究で用いた晶析装置の概略を示している。主にステンレス製の晶析器(Fig.3-2A)、高速攪拌機、シリンジポンプで構成されている。晶析装置の底面に設けた2本のポートから目的物質が溶けた溶液と貧溶媒を注入し、内

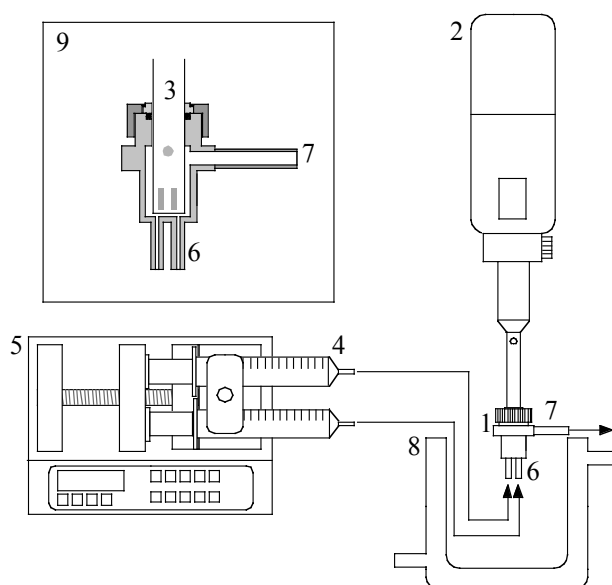


Fig.3-1 Schematic diagrams of mL-scale crystallizer; 1, mixing vessel; 2, high-speed agitator; 3, dispersing element; 4, plastic syringes; 5, syringe pump; 6, inlet tubes; 7, outlet tube; 8, water bath; 9, enlarged illustration of the mixing vessel

部で瞬時に混合、結晶化を行う。析出した結晶スラリーは装置側面の出口ポートから排出される。容器の内径は14 mmである。また、晶析器に攪拌シャフトを挿入した状態での、内容積は0.9 mLである。2つの溶液は流速を精密に制御可能なマイクロシリンジポンプ(IC3210, KD Scientific Inc.)を用いて導入される。高速攪拌機としてUltra-turrax T25 ホモジナイザー (IKA-Works Inc.)を使う。



Fig.3-2 Photographs of mL-scale crystallizer; A, mixing vessel; B, dispersing element

用した。この攪拌機の最高回転数は24,000 rpmである。攪拌シャフトの外観はFig.3-2Bのようになっており、円筒下部の内側に取り付けられた羽根が高速に回転する。羽根が高速回転すると、溶液は底部から吸い込まれ、シャフト下部のスリットからはき出される。Fig.3-3はこの攪拌機を用いたときの液の流れをレーザー散乱粒子相関速度計を用いて可視化した物である。色が赤いほど相対的に速度が速いことを示しているが、特にシャフト下部で速い流れが生じている。本装置では、底部から溶質であるアミノ酸の溶液と、貧溶媒を注入するので、この部分で瞬時に混合し均一な微粒子が生成すると期待できる。

3.2.2 試薬

本装置を用いて晶析を行うアミノ酸（L-アラニン及びグリシン）として和光純薬製特級のものを使用した。溶媒には、Barnstead製の超純水製造装置Nanopure diamondにて精製した超純水を使用した。貧溶媒としては、特級メタノール（和光純薬工業）を用いた。

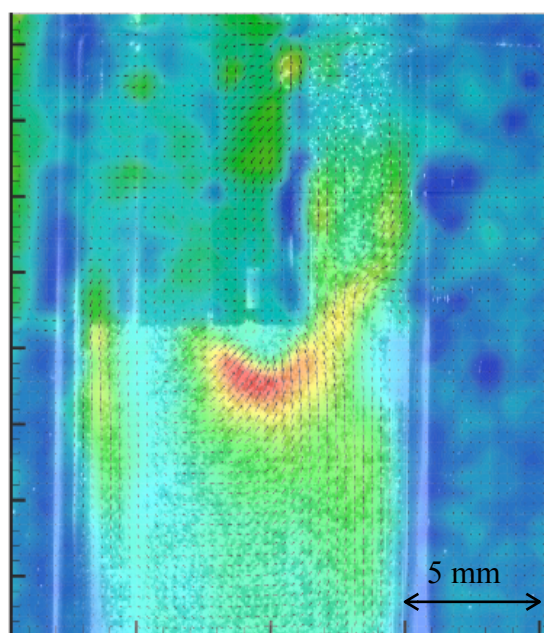


Fig.3-3 Visualization of liquid flow agitated with a high-speed agitator

3.2.3 ミリリットルスケール晶析装置を用いた貧溶媒晶析

L-アラニンおよびグリシンをそれぞれ濃度が166 mg/mLおよび250 mg/mLとなるように水に溶解させた。アミノ酸水溶液および貧溶媒のメタノールを異なるプラスチックシリンジに充填し、マイクロシリンジポンプにセットした。結晶化を開始する前に、ミリリットルスケール晶析装置内部にメタノールを満たしておいた。結晶化溶液と貧溶媒を同時に装置に注入して晶析を開始した。溶液とメタノールの混合物の流速は1.6、16、160 mL/minである。これらの流速は、それぞれ平均滞留時間33、3.3、0.33 secに相当する。

水溶液とメタノールの混合物の組成は、50、78、91%となるように調節した。内径が異なる2本のシリンジを組み合わせることによって、メタノール組成を調節した。

晶析中の温度を制御するために、晶析器は25 °Cにセットしたウォーターバスにつけた。しかし、晶析操作中、晶析器出口から出てくる溶液の温度は、水とメタノールの混合熱および結晶化熱によって32.4 °Cとなった。なお、温度はL-アラニンおよびグリシンで同じであった。

出口から回収されたスラリーは所定時間ごとに孔径0.45 μmメンブランフィルターで濾過して回収し、乾燥させた。結晶のサイズと形状は、走査型電子顕微鏡 (Hitachi S-3500N型)にて観察した。グリシンの結晶多形は粉末X線回折装置(Rigaku Mini-Flex)を用いて同定した。

ミリリットルスケール晶析装置と、従来型の半回分式および連続完全混合槽式晶析装置で性能を比較するために、250 mg/mLのグリシン溶液からビーカースケールでの結晶化を行った。半回分式では、40 mLのメタノールの中へ40 mLのグリシン溶液を一定速度(0.8 mL/min)で供給した。混合物はガラス平板攪拌翼で300 rpmで攪拌した。連続晶析では、容量155 mLのジャケット付き晶析器の中にグリシン水溶液とメタノールを一定速度 (2.5 mL/min) で供給した。11.5分後からペリスタポンプを用いてスラリーを連続的に抜き出して、晶析器内の液量が57.5 mLで一定となるように維持した。攪拌にはミリリットルスケール晶析装置で用いたのと同じ超高速攪拌機を用いた。回転速度は24,000

rpmにセットした。

3.3 結果

3.3.1 結晶のサイズおよび形状に及ぼす平均滞留時間の影響

連続式ミリリットルスケール晶析装置を用いてグリシンおよびL-アラニンの貧溶媒晶析を行った。等量の溶液およびメタノールを晶析装置内で混合した。溶液を供給し始めてから装置内が定常状態に達するまでに必要な時間を決定するために、回収したスラリー溶液中のグリシンおよびL-アラニンの濃度を経時的に測定した。平均滞留時間 τ は33 secである。Fig. 3-4にその結果を示す。晶析操作開始直後のメタノール組成が高いため、溶液濃度は低いところから始まるが、時間とともに濃度は定常に近づき増加する。そして、操作開始9 min後に一定の値に到達することがわかった。 $\tau=33$ secすなわち流速1.6 mL/minで液を供給しているため、晶析内部容積の16倍に相当する溶液を供給すると定

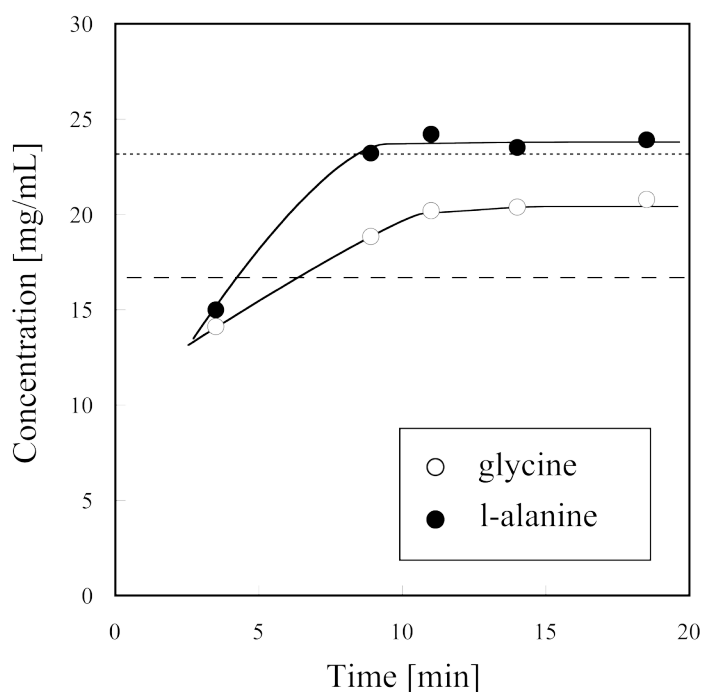


Fig.3-4 Change in glycine and L-alanine concentration of the slurry with time. The flow rate was set at 1.6 mL/min ($\tau=3.3$ sec). The dotted and broken lines are the solubility of L-alanine and glycine, respectively.

常状態になることを意味している。以後の実験では操作開始から14 min後に得られた結晶を分析することとした。

Fig. 3-5は得られたグリシン結晶のSEM写真である。これらは全て α 晶であった。平均滞留時間を短くすると、より小さな結晶が得られた。SEM画像から結晶の長軸長さおよび短軸長さを測定した。Fig. 3-6はそれぞれの条件で得られた結晶の粒径分布を示している。Fig. 3-6(a)は長軸方向の長さ基準の粒径分布を示している。滞留時間が短くなるほど結晶の粒径が小さくなっていることがわかる。グリシンとL-アラニンについて得られた粒径分布を整理したものをTable 3-1に示した。

Fig. 3-5および3-6の結果は、短い平均滞留時間 τ （特に $\tau=0.33$ sec）では小さな結晶が得られたことを示しているが、これは滞留時間が短すぎて成長が

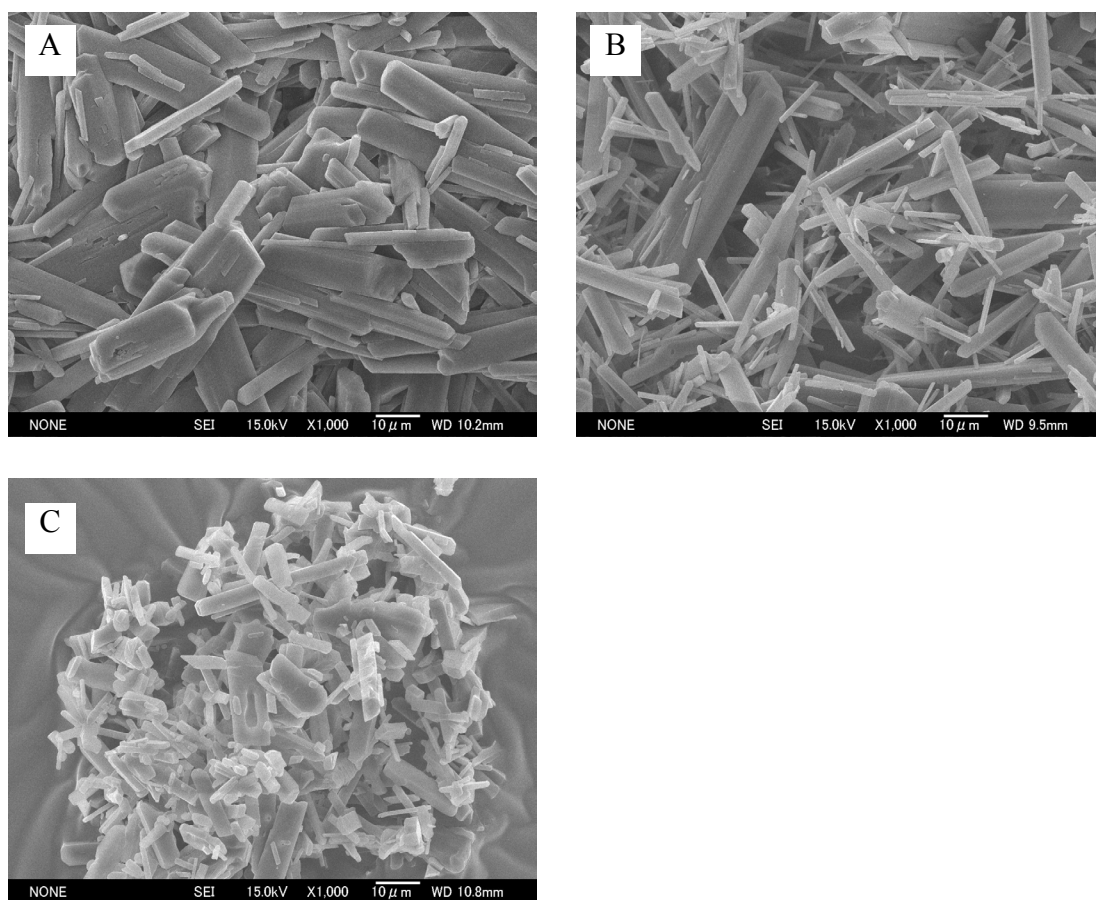


Fig.3-5 SEM images of glycine crystals obtained at different average residence times; $\tau=33$ sec (A); $\tau=3.3$ sec (B); $\tau=0.33$ sec (C).

不十分なまま出口から排出されたということはない。なお、Table 3-2に示すように実際には平均滞留時間が短いほど回収率は高かった。結晶の収率は次式を用いて算出した。

$$Y_c = 100 \frac{(C_i/2 - C)}{(C_i/2 - C_s)}$$

ここで、 C_i は晶析装置に送られた溶液の初濃度、 C は出口で回収された溶液の濃度、 C_s は水-メタノール混合溶媒中における溶解度である。溶液は等しい体積のメタノールと混合されるので、式中では初濃度 C_i を2で除している。平均滞留時間 $\tau=0.33$ および3.3 secの条件では、収率は100%だった。一方、 $\tau=33$

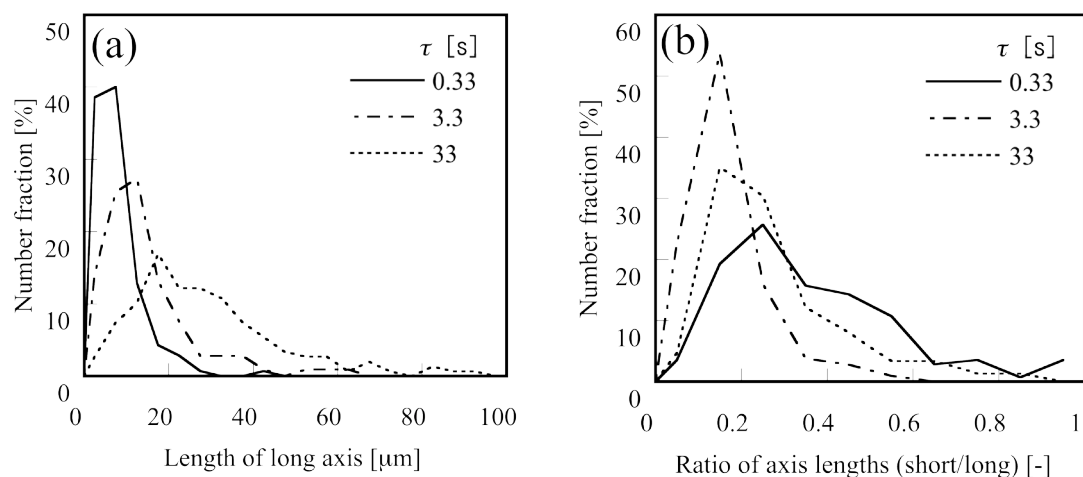


Fig.3-6 The size distribution of glycine crystals on the basis of the long axis length (a) and the number distribution of ratio of axis lengths (short / long) (b)

Table 3-1 The specification of crystal size distribution of glycine and L-alanine crystals

Residence time [s]	Glycine		L-alanine	
	Average size [μm]	CV [%]	Average size [μm]	CV [%]
0.33	7.5	73.3	14.4	56.3
3.3	14.7	76.6	14.6	71
33	28.7	61.4	50.7	57.1

secでは収率が93%に減少した。短い時間で得られた結晶の収率は100%だったことから、短い滞留時間で小さな結晶が得られたのは成長が不十分だったからではないことになる。一方、 $\tau=33$ secの条件では大きな結晶が得られたが、収率は低下したのは、次のような理由が考えられる。すなわち、滞留時間が長い場合、発生した結晶は長い時間晶析装置内に留まるため、溶液中の過飽和は新しい結晶の発生よりもむしろ既に存在する結晶の成長に消費され、核発生が抑えられると考えられる。もし、成長速度があまり小さくなく過飽和が完全に消費されないなら、収率が下がることになる。また、これに関してL-アラニンの結果について後述する。

Fig. 3-6(b)は短軸/長軸比の数分布を示している。平均滞留時間が短くて核発生が優先される場合には針状性が低い結晶が得られているが、平均滞留時間が長くなると上述のように結晶成長の影響が現れるため針状性が増した後に短軸方向に成長する結晶に変化する様子が見られた。この図では、横軸の値が小さいほど細長い、すなわち針状性が高い結晶であることを示している。

Fig. 3-7は様々な滞留時間で得られたL-アラニン結晶のSEM写真を示している。結晶は極細の結晶が束状に集まったような外観をしていた。冷却晶析によって得られるL-アラニンの典型的な形はプリズム状⁴⁴である。一方、2-プロパノール存在下で結晶化を行うと晶癖は大きく変わり針状結晶が析出すると報告されている⁴⁵。本研究でも、アルコールを用いた貧溶媒晶析を行っているので、このような針状結晶が得られたと考えられる。この針状結晶の粉末X線回

Table 3-2 Yield of glycine and L-alanine crystals obtained at different residence time

Residence time [s]	Yield of crystals [%]	
	Glycine	L-alanine
0.33	102	87.2
3.3	101	89.1
33	92.5	98.8

折パターンは、プリズム状結晶のものと全く同じであったことから、形状の違いは多形に由来するものではない。 $\tau=33$ secで得られた結晶は太く、裂けやすかったが、滞留時間が短い場合は細い結晶が得られた。

本研究では、高速攪拌機を用いているため、結晶の破碎が懸念される。そこで、結晶の形状やサイズに及ぼす攪拌の影響を確認した。平均粒径65 μm のL-アラニン結晶0.84 gを17 mLの飽和L-アラニン水溶液に懸濁した。そして、高速攪拌機を用いて24,000 rpmで10 min攪拌した。結晶を回収してSEMで観察したところ、サイズや形状は元の結晶とほぼ同じであることがわかった。以上のことから、少なくとも65 μm 以下のサイズの結晶では、秒オーダーの短時間の高速攪拌では破碎は問題にならないと結論づけた。

Fig. 3-8(a)と(b)はそれぞれ得られたL-アラニン結晶の長軸長さ基準の粒径分

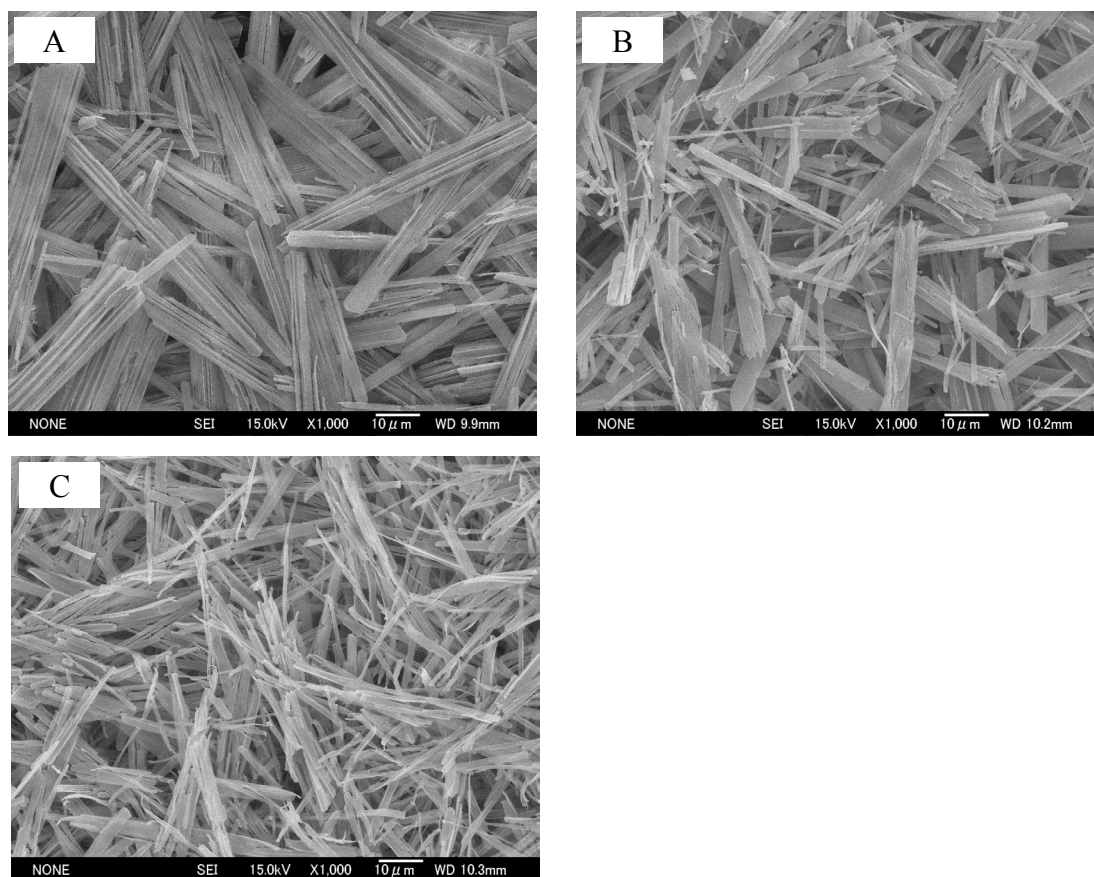


Fig.3-7 SEM images of L-alanine crystals obtained at different average residence times; $\tau=33$ sec (A); $\tau=3.3$ sec (B); $\tau=0.33$ sec (C).

布および軸比の分布を示している。 $\tau=0.33$ と 3.3 secでは、結晶のサイズが小さく、分布が狭くなっていた。一方、 $\tau=33$ secではブロードな分布が得られた。長い平均滞留時間では、先のグリシンの例に見られたのと同様に、いくつかの結晶が長時間晶析装置内に留まり、供給された過飽和がそれらの結晶の成長に消費されたためであると考えられる。Fig. 3-8(b)が示すように、結晶の軸比は平均滞留時間の影響を受けなかった。Table 3-1からわかるようにL-アラニン結晶の収率は、グリシンで得られた収率より低かった。滞留時間が長くなると、収率は向上した。これは、L-アラニンの成長速度が遅いためと考えられる。

3.3.2 アミノ酸溶液と貧溶媒の混合比率が結晶形状及び多形に及ぼす影響

これまで述べてきた貧溶媒晶析の結果は、溶液と貧溶媒を等量混合して結晶化したものであった。溶解度は溶媒の組成によって変化するので、混合比率が変わると過飽和度も変化する。そこで溶液と貧溶媒の混合比率がアミノ酸の晶析に及ぼす影響について検討した。混合後のメタノールの組成は、内径の異なる

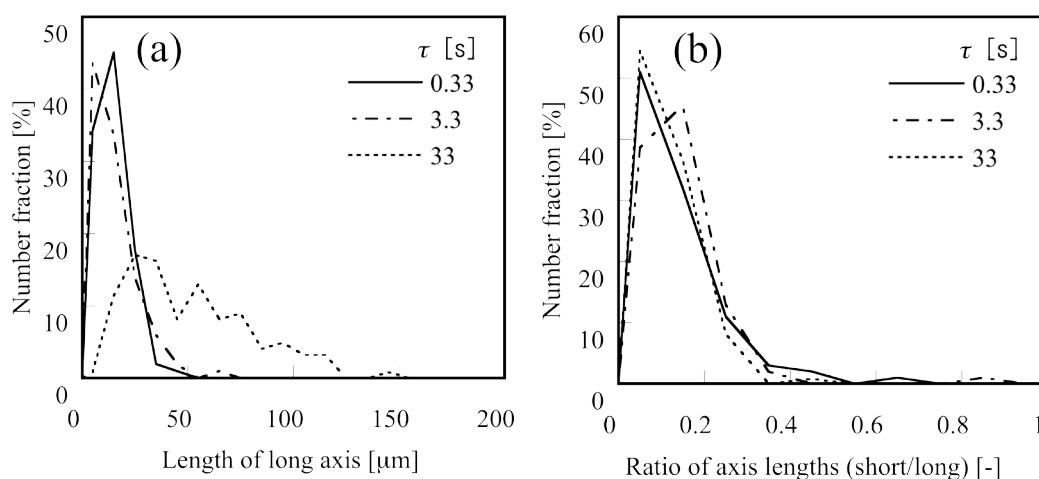


Fig.3-8 The size distribution of L-alanine crystals on the basis of the long axis length (a) and the number distribution of ratio of axis lengths (short / long) (b)

るシリンジを使うことにより、50、78、91%となるようにした。

Fig. 3-9は得られたL-アラニン結晶のSEM写真である。滞留時間は3.3 secである。メタノール組成が上がるとともに結晶の粒径が小さくなった。50%メタノール中における過飽和度は3.1であるが、91%では9.8となる。過飽和度が高い条件から晶析を行うと大量の核が発生するため、結晶の微小化が実現できたと考えられる。

Fig. 3-10は異なるメタノール混合比率で得られたグリシン結晶のSEM写真である。L-アラニンの場合と同様に、グリシンでもメタノール組成が大きくなるほど結晶が小さくなっていた。

第2章で述べたように、グリシンには3種の多形が報告されている。水溶液からの冷却晶析では、準安定晶の α 晶と安定晶の γ 晶が得られる。一方、アルコール水溶液からは、針状の β 晶が析出することがわかっている。 β 晶は3つの

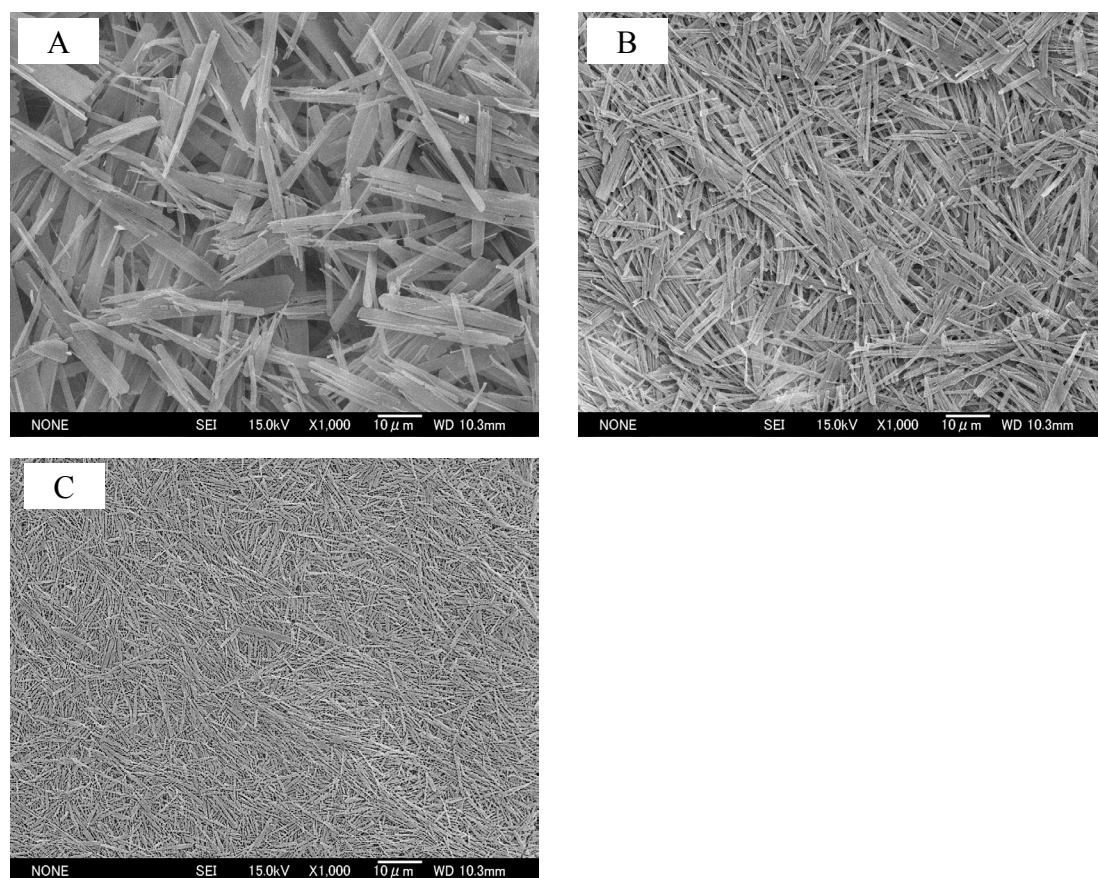


Fig.3-9 SEM images of L-alanine crystals obtained at different methanol compositions; 50% (A), 78% (B), 91% (C).

多形のうちでもっとも不安定であり、溶液中では溶媒媒介転移により準安定の α 晶に転移することが知られている。本研究では、貧溶媒晶析によりグリシンの結晶化を行っているので、結晶多形が出ていないかXRDにより確認した。Fig. 3-11に異なるメタノール組成で得られたグリシン結晶のXRDプロファイルを示した。平均滞留時間 τ は3.3 secである。メタノール組成50%とそれ以外ではXRDパターンに相違があることがわかる。グリシンの α 晶は、 $2\theta = 14.8, 29.2, 29.9^\circ$ に他の多形にはない特徴的なピークを持つ。また、 β 晶に特有のピークは $17.9, 33.8, 34.4^\circ$ に現れる。Fig. 3-11の結果から、メタノール50%の条件では α 晶、73%および91%では β 晶が得られたことがわかった。Fig. 3-12は同様の実験を、平均滞留時間 $\tau = 33$ secで行った結果を示している。メタノール50%および73%の条件では α 晶、91%では α 晶と β 晶の混合物が得られ

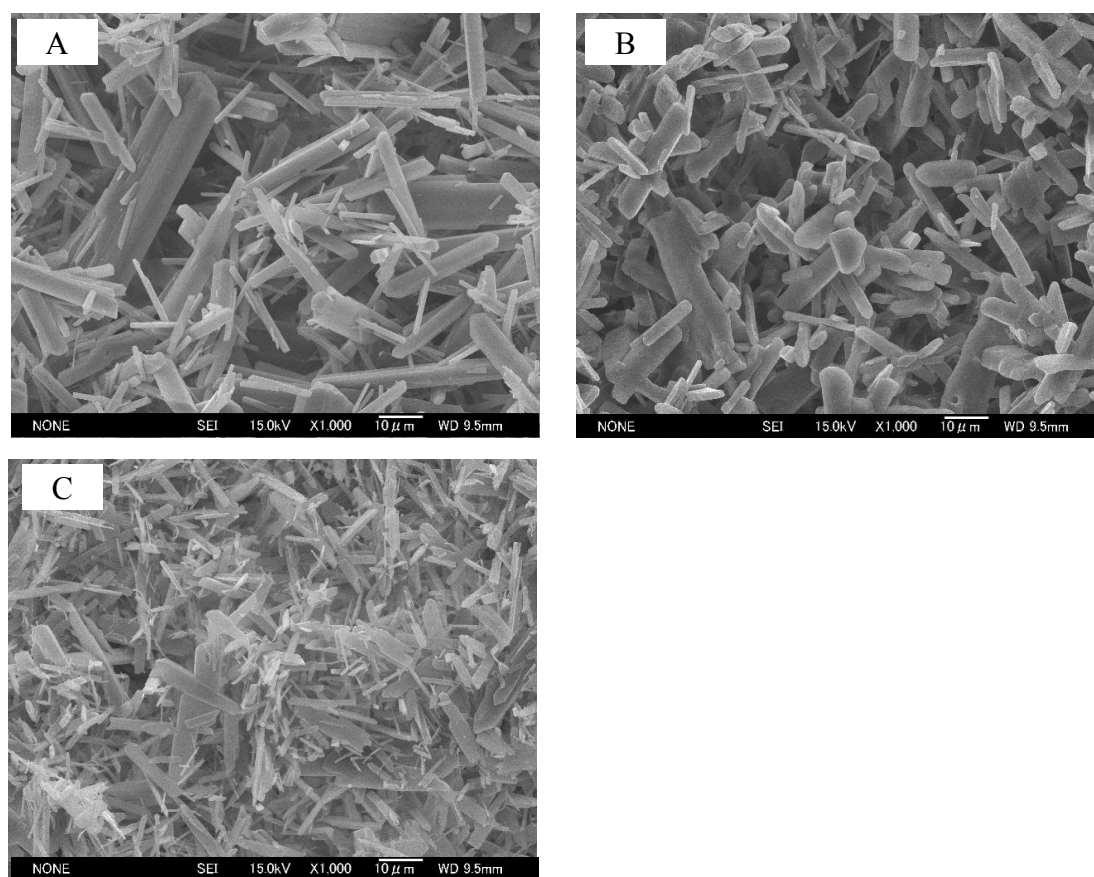


Fig. 3-10 SEM images of glycine crystals obtained at different methanol composition; 50% (A), 78% (B), 91% (C). ($\tau = 3.3$ sec).

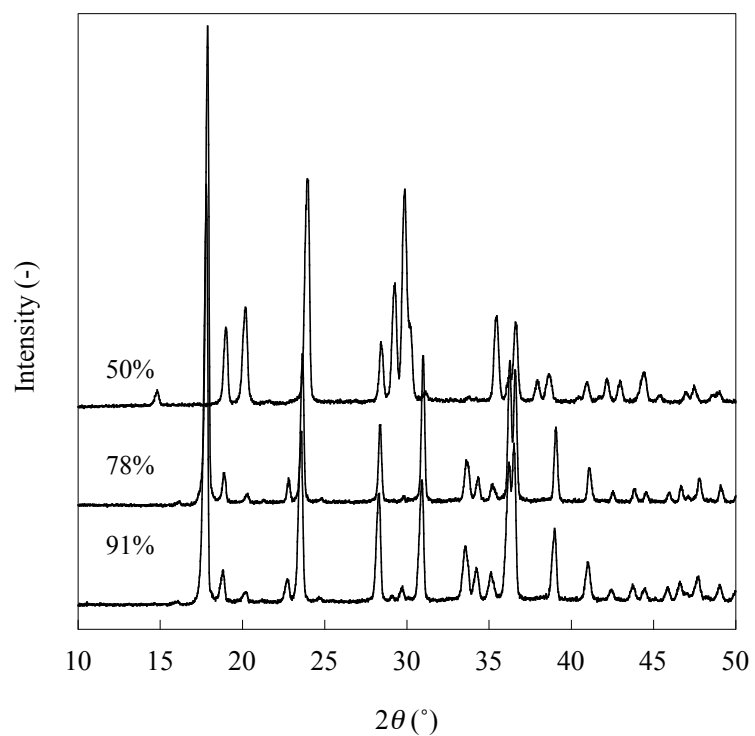


Fig. 3-11 XDR profiles of glycine crystals obtained at different methanol composition ($\tau = 3.3$ sec).

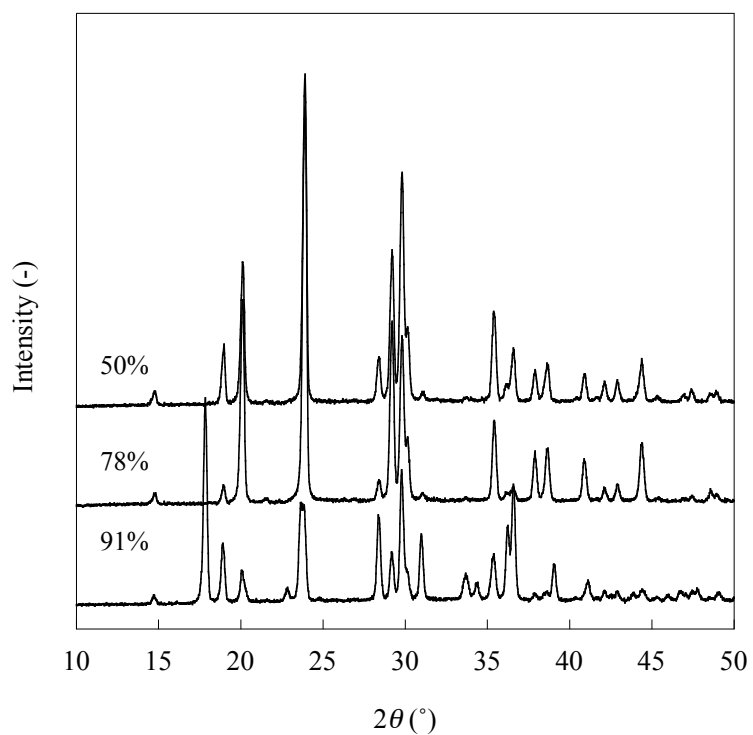


Fig. 3-12 XDR profiles of glycine crystals obtained at different methanol composition ($\tau = 33$ sec).

Table 3-3 Summary of polymorphs of the glycine crystals obtained at different methanol composition and residence time.

Methanol composition (%)	Average residence time, τ (sec)	
	3.3	33
50	α	α
78	β	α
91	β	$\alpha + \beta$

た。滞留時間が長いほど α 晶の割合が増えたことから、まずはじめに β 晶が析出し、 α 晶へと転移したと推察される。オストワルドの段階則^{31, 46}によると、ある条件で結晶が析出する場合、溶解度の高い準安定晶が先に析出するとされている。段階則に従わない化合物も多く報告されているが^{47, 48}、グリシンの晶析では β 晶が先に析出し α 晶へと転移した。

準安定晶から安定晶への転移は溶媒媒介転移により進行する。すなわち、はじめに準安定である β 晶が析出し、後に安定である α 晶が核発生、成長する。さらに α 晶が成長すると溶液濃度が減少するため、 β 晶の溶解度以下になり β 晶が溶解する。最終的に安定な α 晶のみが残るという現象である。多形制御において、溶媒媒介転移する2つの多形がある場合、安定晶の核発生が起こりさえすれば安定晶を得ることは容易である。なぜなら、安定晶を得たければ、準安定晶を必要な時間溶液中で攪拌して完全に転移するのを待てばいいからである。一方、準安定晶を得ることは、安定晶を得る場合ほど容易ではない。安定晶の核発生を抑制したり、転移前に準安定晶をすばやく回収するなどの工夫が必要となる。

グリシンの貧溶媒晶析においても、準安定である β 晶を選択的に取得することを目的とする場合には、いかに転移前に準安定晶を回収するかが重要となる。本研究で提案するミリリットルスケール晶析装置は、秒単位の滞留時間で連続晶析を行うため、転移前に確実に目的の多形を回収することが可能である。

また、転移を促進して安定晶を得る場合も、本装置は有用である。溶媒媒介転移の多くは、安定晶の成長が律速である。したがって、転移を速やかに進めるためには安定晶の成長を促進する必要がある。これまで述べてきたように、本装置は高速に攪拌しているため、秒スケールの平均滞留時間であっても100%近い収率を実現している。これは核発生と結晶成長を抑制する拡散抵抗が高速攪拌によって無視できる状態がつくられていることによるものである。同じ効果が安定晶の核発生と成長にも期待される。以上のことから、本装置は平均滞留時間をうまく調節することで、準安定晶および安定晶を作り分けることが可能な装置であるといえる。

3.3.3 ミリリットルスケール晶析装置と従来型装置の比較

本研究では結晶サイズを均一にコントロールするためには大きな装置は不向きと考え、小スケールで高速攪拌下で連続晶析を行うミリリットルスケール晶析装置を考案するに至った。そこで、本装置が従来の晶析装置に比べて小さくて均一な結晶が得られているのか確認する実験を行った。従来型晶析装置としては、半回分晶析装置とMSMPR (Mixed Suspension Mixed Products Removal) 型連続晶析装置を用いた。どちらも、ミリリットルスケール晶析装置の64倍の体積で操作した。

Fig.3-13にこれらの晶析装置で得られたグリシン結晶のSEM写真を示した。半回分晶析装置では、大きな結晶が得られた。他と比べて非常にサイズが大きいため、Fig. 3-13(A)は撮影倍率の異なる写真である。この晶析装置では、はじめに現れた結晶の存在下で徐々に新しい溶液を添加していく操作であるため、隣に存在する結晶の成長のみに過飽和が消費されたと考えられる。

一方、MSMPRでは半回分式で得られたよりも小さな結晶が得られたが、ミリリットルスケール晶析装置を用いた場合に比べればはるかに大きな結晶が得られている。これは、ミリリットルスケール晶析装置と同様に高速攪拌機を用いたが、その攪拌効果が晶析槽全体には及ばなかったと考えられること、およびミリリットルスケール晶析装置の平均滞留時間が3.3 secであるのに対し、

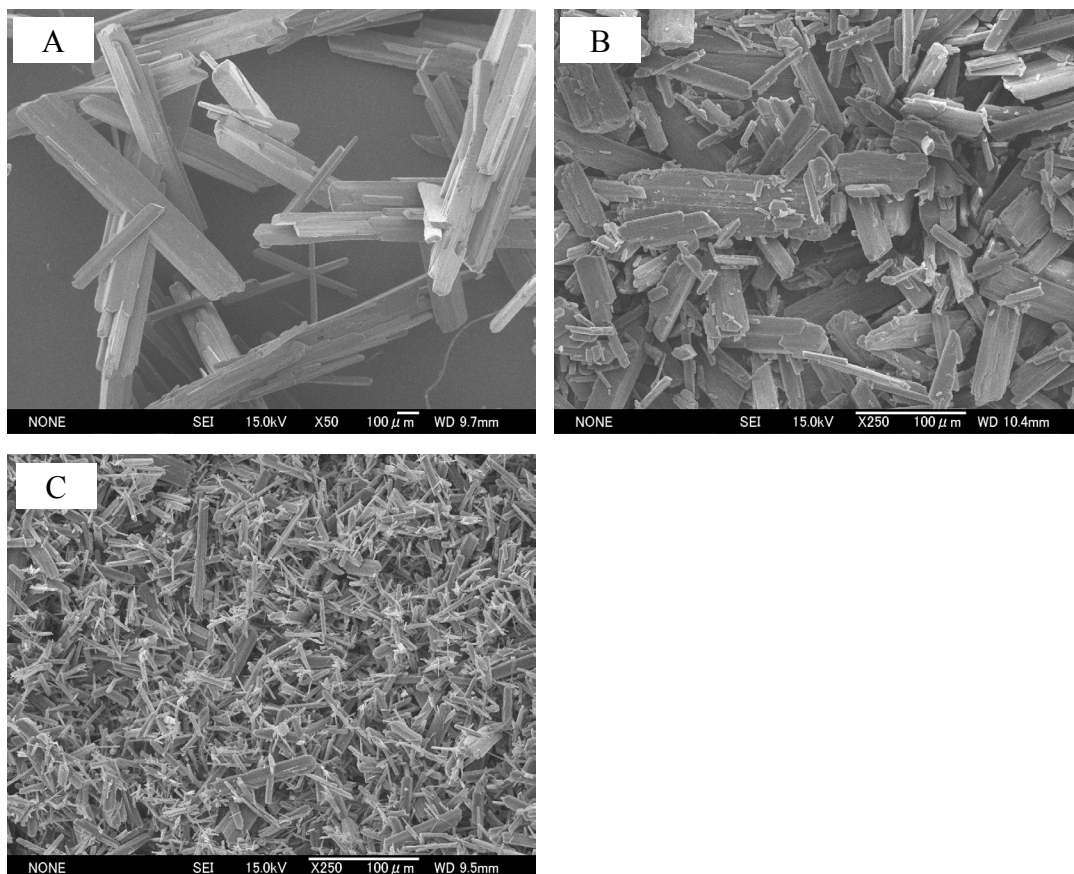


Fig.3-13 SEM images of glycine crystals obtained by semi-batch (A), continuous (B) and mL-scale crystallizer (C).

MSMPRタイプでは11.5 minと長いため、既存の結晶の過大な成長が避けられなかったことによると考えられる。

以上、ミリリットルスケール晶析装置を用いた場合は、他の2タイプで得られた結晶よりも非常に小さく、均一な結晶が得られた。

3.4 結言

微小で均一な結晶を製造するために、ミリリットルスケール連続式晶析装置を新規に開発した。晶析装置は容量0.9 mLのステンレス製混合槽と最高回転速度24,000 rpmの高速攪拌機から構成されている。本装置を用いて、グリシンと

L-アラニンの貧溶媒晶析を行った。アミノ酸溶液と貧溶媒の供給速度を変えて、平均滞留時間を0.33、3.3、33 secにセットした。得られた結晶は従来型半回分式およびMSMPR型連続式晶析装置を用いた場合に比べ、非常に小さくしかも均一であることがわかった。結晶の回収率は、87から100%であり、アミノ酸の種類に依存していた。ミリリットル晶析装置では短い平均滞留時間を実現できるので、結果として均一な微結晶が得られたことを確認した。滞留時間を短くすることで、安定晶に転移しやすい準安定晶でも確実に製造できることを示した。

本装置はミリリットルスケールであり、1台では工業生産に対応できないが、台数を増やすことで処理量をアップすることができる。装置の容量を増やすよりも、台数を増やす方が安全に確実にスケールアップすることが可能である。

以上のように、本装置は微結晶を得るための粒径制御や多形制御に有効であることが示された。

第4章 マイクロ波を用いたイブプロフェンの結晶化

4.1 緒言

近年の医薬化合物の化学構造は複雑化しており、水難溶性のものが多いことは第3章で述べたとおりである。水難溶性の医薬を少しでも溶けやすくする方法の一つとして、結晶の微粒子化が挙げられる。結晶を微粒子化しても溶解度は変化しないが、比表面積が大きくなって溶解速度が増すためバイオアベイラビリティが向上すると期待される。結晶を微粒子化する方法は、大きな結晶をジェットミルなどを用いて粉碎するブレイクダウン法³²と溶液等から直接微粒子を生成させるビルドアップ法に分類できる。ブレイクダウン法は製剤の工程で広く利用されているが、晶析して得られた結晶を再度碎くという非効率さに加え、固体として取り扱うため異物混入の心配がある。

一方、ビルドアップ法は晶析操作により適切な大きさの結晶を得る方法である。晶析で微粒子を得るためには、大量の核を同時に発生させなければならない。晶析操作で、そのような大量の核を発生させるためには、超高過飽和状態から瞬時に結晶が析出する操作が必要である。超高過飽和状態を実現するためのもっとも一般的な方法としては、貧溶媒添加法がある。この方法では、予め目的の溶質化合物を良溶媒に溶かしておき、そこへ貧溶媒を添加する。良溶媒と貧溶媒が混合されることで、溶質分子の溶解度が低下して結晶が析出する。この方法はもっとも一般的であるが、晶析終了後に回収した溶媒を再利用するには蒸留等で再度分離をしなければならないことや、医薬品等では多くの溶媒で溶媒残存率等⁴が厳しく規制されているため、使用可能な貧溶媒の種類に制限があることなどのデメリットもある。

他の方法としては、超臨界二酸化炭素を利用する晶析法が数多く報告されている⁴⁹⁻⁵²。この方法は超臨界状態の二酸化炭素と溶質化合物を加温混合して溶解させ、ノズルから一気に放出する。圧力が急降下して溶解度が下がることが、結晶化の原理とされている。しかし、常温常圧で気体である二酸化炭素を用いているため、結晶の成長が溶媒の蒸発に追いつかなかった場合、溶質の周

りから溶媒が瞬時に失われて、溶質分子がアモルファス化してしまう例がほとんどである。さらに、超臨界二酸化炭素の溶媒としての極性はヘキサンに近いとされており、この方法が有効な化合物はかなり疎水性のものに限定される。他の超臨界二酸化炭素の利用法としては、化合物を極性の溶媒に溶かしておき、超臨界二酸化炭素を吹き込むという方法がある⁵³⁻⁵⁶。この方法では、超臨界二酸化炭素を単に貧溶媒として用いているに過ぎず、超臨界であることのメリットが見当たらない。また、超臨界二酸化炭素が蒸発してしまえば、元の未飽和溶液に戻ってしまうので結晶の回収にも工夫が必要である。また、超臨界二酸化炭素以外にも、エマルジョンを利用した方法などが提案されている。

では、冷却晶析で微粒子を作りたい場合はどうすればよいのだろうか。冷却晶析では、貧溶媒添加法のように瞬時に過飽和にするのは不可能である。工業生産における実機スケールでは、10°C/hより速く冷却することは現実的ではない。したがって、実操作では溶液の温度低下は遅く、未飽和から過飽和になって少しずつ核が現れることになる。それらの結晶が成長して濃度が下がるので高過飽和状態を作り出すのは不可能である。また、実機スケールでは一定の冷却速度を達成するためにジャケット部分の晶析槽内壁はかなり低温になっており、槽内の溶液温度は不均一になっている。

本研究では、冷却晶析において微粒子調製に適した高過飽和状態を作り出すために、低過飽和度において結晶するのを阻害する操作の導入を図った。溶液から核が発生しないように維持しながら冷却することができれば、実用可能な冷却速度でも超高過飽和状態を創出することができると考えられる。過飽和溶液中で結晶の核発生を抑制する手段として、過飽和溶液へのマイクロ波の照射を試みた。

マイクロ波は概ね 3×10^8 から 3×10^{10} Hzの周波数範囲に入る電磁波であり、それに相当する波長は1 mから1 mmとなっている。マイクロ波は家庭用電子レンジとして広く一般的に利用されているが、食品から医療、通信、殺菌、環境修復など様々な工業技術にも応用されている⁵⁷。誘電性の媒質中をマイクロ波が通過するとき、分子レベルの双極子がマイクロ波によって振動する。しか

し、マイクロ波の電界は非常に高速に反転変化するので、この電界変化に双極子の振動が追いつかなくなり、マイクロ波電界と双極子の間に位相差が生じる。この位相差が誘電損失として観測され、マイクロ波出力が減衰する。この損失分が発熱として現れるため、様々な物体の発熱に利用されている⁵⁸。

マイクロ波加熱の原理は双極子を振動させることにあるので、化合物の極性基を常に振動させた状態にすることができる。本研究でも、マイクロ波を当てながら溶液を冷却することによって、結晶核発生を抑制しつつ超過飽和状態となる低温にまで冷却できると期待した。結晶化の対象としては、難水溶性医薬化合物の一つとして知られるイブプロフェン(Fig.4-1、以下IBP)を用いた。IBPにはカルボキシル基があるため、マイクロ波照射の影響を受けると予想される。例えば、酢酸には水の約9分の1の誘電損失がある⁵⁹。

4.2 実験

4.2.1 試薬

Sigma-Aldrich社製のIBPナトリウム塩を後述する方法で中和して、フリー体にしたものを使用した。IBPには不斉炭素が一つあり光学活性物質であるが、市販の試薬はラセミ体混合物である。医薬としてもラセミ体が用いられている。IBP以外の、その他の溶媒としては全て和光純薬工業製の特級品を用い

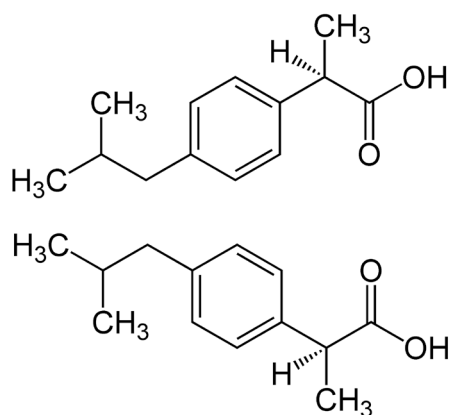


Fig. 4-1 Ibuprofen (IBP)

た。

4.2.2 フリー体イブプロフェンの調製方法

購入したIBPナトリウムは水に対する溶解性が高く、本研究の目的である難水溶性物質の微粒子化のためのモデル物資には適さないため、中和してフリー体のIBPを調製した。操作は以下の手順で行った。

IBPナトリウム塩を約200 g/L-solventとなるように純水に溶解後、マグネティックスターラーによる攪拌下、チューブポンプを用いて2M 塩酸をpHが2以下になるまでゆっくりと滴下した。滴下量の目安はIBPナトリウム塩50 gに対して、2M 塩酸 120 mLである。滴下していくとやがてオイル状になり、さらに滴下を続けると最終的に高密度の結晶懸濁液が得られる。懸濁液をガラスフィルターを用いてろ過し、純水で十分に洗浄して残存塩酸や中和反応により生じた塩化ナトリウムを除去後、フリーのIBP結晶を回収した。

水分を含むIBP結晶からマイクロ波晶析の照射の障害となる微量水分を除くため、さらなる精製を行った。回収したIBP結晶を予めモレキュラーシーブス3Aで脱水処理をしたヘキサンに溶解させた。溶液の濃度は約200 mg/mL-solventである。無水硫酸ナトリウムをヘキサン溶液に加え、水分を除去した。溶液中の水層が見えなくなるまで加えた後、溶液を0.1 μ m PTFEメンブランフィルターを用いてろ過した。得られたろ液をロータリーエバポレーターを用いて、濃縮乾固し水分を含まない結晶を得た。回収したIBP結晶を高真空ポンプを用いて一晩、減圧乾燥させ、ヘキサンを完全に取り除いた。

4.2.3 マイクロ波晶析装置

本研究では、Fig. 4-2に示すマイクロ波晶析装置を開発した。ベースとなるのは、IDX(株)製マイクロ波照射有機化学反応装置「グリーンモチーフ」である。この装置は発振周波数が 2450 ± 30 MHzであり、出力を30~300 Wの範囲で自由に調節できる。シングルモード導波管を採用しており、溶液へ均一なマイクロ波を連続的に照射することが可能である。装置前面の導波管の内部で、右側

から左側へマイクロ波が照射される。因みに家庭用電子レンジはマルチモード方式が採用されており、出力の調節を照射のオンオフの時間間隔を変えることにより行っているため、一定出力強度のマイクロ波を連続的に照射することができない。

グリーンモチーフは有機合成用の迅速加熱装置として販売されているが、本研究ではマイクロ波を照射しながら冷却晶析を行うことを目的としているので、種々の改良を行ってから晶析実験に使用した。Fig. 4-2に示すように導波管の中心部にガラス製の晶析器をセットし、マイクロ波を照射しながら冷却晶析を行う。溶液にマイクロ波が照射されると温度が上昇してしまうため、ガラス晶析器のジャケットには不燃性かつ導電率の低いフッ素系冷却剤(FC-3283 住友スリーエム社製)を冷媒として循環させた。フッ素系冷却剤はマイクロ波を吸収しない。導波管内部の様子を観察できるように、セルの正面に観察窓を取り付けた。観察窓には小型のUSBカメラを取り付け、内部で結晶が析出し始める時間を確認するのに使用した。結晶化に使う有機溶媒がマイクロ波導波管内で蒸発し、蒸気が充満することを予防するために、導波管下部に取り付けたパイプから窒素ガスをパージした。また、導波管外部の下部にマグネチックスターラーを設置することで、結晶化容器内の溶液を攪拌した。

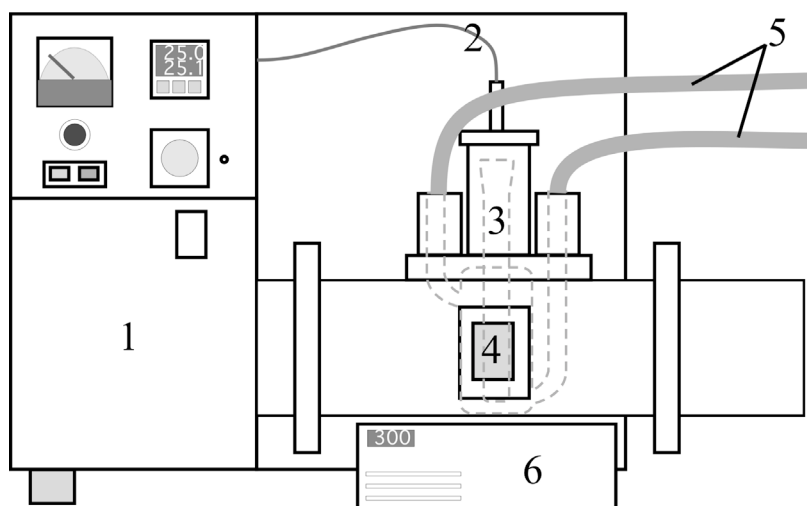


Fig. 4-2 Schematic diagram of the microwave generation apparatus. 1: microwave generator, 2: thermocouple, 3: glass vessel, 4: window, 5: circulation tubes for coolant, 6: magnetic stirrer

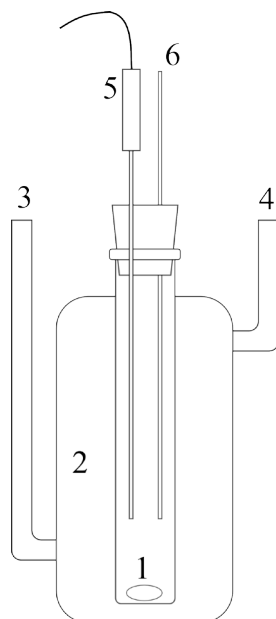


Fig. 4-3 Crystallization glass vessel (1; magnetic stirrer, 2; cooling jacket, 3; inlet of Fluorinert™, 4; outlet of Fluorinert™, 5; temperature sensor, 6; PTFE tube)

Fig. 4-3は実験に使用したガラス製晶析器の模式図を示している。中央の容量7 mLの円筒部分に溶液を入れて、冷却晶析を行う。円筒部分は冷却用のジャケットで覆われており、温度制御が可能である。前述のように、冷媒としてはフロリナートFC-3283を用いた。また、溶液の出し入れは、容器に挿入したPTFEチューブを通して行った。内部の溶液温度は晶析器に挿入した熱電対により、リアルタイムで測定・記録した。

4.2.4 マイクロ波照射下におけるイブプロフェンの結晶化

濃度が200 mg/mL-solventとなるようにIBPとヘキサンを計り取り、45℃で完全に溶解させた。45℃で3時間保持した後、孔径0.45 μmメンブランフィルターを用いてろ過し、再び45℃の恒温槽で一晩保持した。晶析器をマイクロ波発生装置の反応部に設置後、40℃に設定した冷媒を流し、晶析器を40℃に安定させた。IBP-ヘキサン溶液をPTFEチューブを通して、晶析器内に素早く流し入れた。攪拌速度は400 rpmに設定した。溶液温度が40℃で安定したら、マイクロ波照射と冷却を同時に開始した。マイクロ波出力は100および300 Wに設定した。冷媒の冷却速度は一定で、15℃/hの速度で冷却するように設定し

た。溶液温度が -1.5°C に到達したら、マイクロ波照射と冷却をともに停止し、孔径 $0.1\text{ }\mu\text{m}$ のPTFEメンブランフィルターを用いてろ過し、結晶を回収した。

4.3 結果

4.3.1 マイクロ波晶析に適した溶媒の選定

マイクロ波がIBPの晶析に及ぼす影響を検討する過程では、溶液にマイクロ波を照射したとき、IBP分子だけにマイクロ波が照射されることが望ましい。そこで、マイクロ波をできるだけ吸収しない溶媒の選択を試みた。

種々の有機溶媒にマイクロ波を照射してその温度変化をみることで、マイクロ波吸収特性を調べた。測定した溶媒は水、純ヘキサン、純エタノール、純イソプロパノール(IPA)、および、エタノール、IPAとヘキサンの混合物である。溶媒7 mLにマイクロ波を照射したときの温度変化を測定し、照射前からの温度の上昇挙動をFig. 4-4に示した。極性の溶媒はマイクロ波を吸収するので、温度が急激に上昇することがわかった。溶媒は誘電損失 ϵ'' が大きいほど発熱量

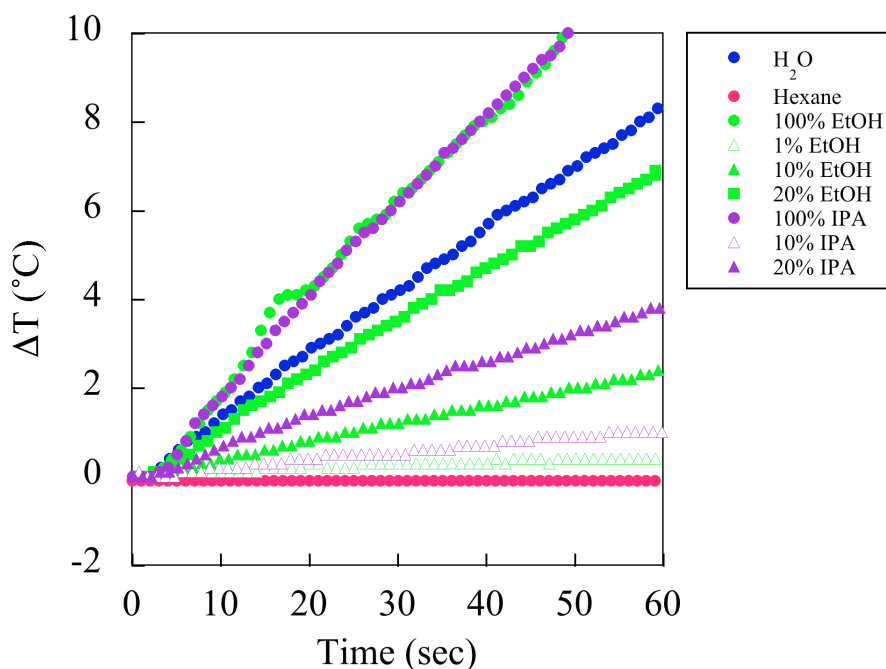


Fig. 4-4 Increase of temperature of various solvent during microwave irradiation

が大きくなる。純溶媒だけで比較すると、誘電損失はそれぞれ9.889(水)、14.622(IPA)、22.866(エタノール)、0.038(ヘキサン)であり⁵⁸、エタノールがもっともマイクロ波を吸収しやすい。ヘキサンは極性基を持たず、ほとんどマイクロ波を吸収しないため、マイクロ波を照射しても温度が上昇しなかった。非極性のヘキサンにエタノールあるいはIPAを添加すると、マイクロ波照射により温度が上昇することがわかる。本研究では、マイクロ波を照射しながら冷却晶析を行うため、できるだけ温度の上昇は避けたい。そこで、マイクロ波をほとんど吸収しない純ヘキサンを結晶化溶媒として選択した。

次に、溶質であるIBP分子にマイクロ波が作用するかどうか確認する実験を行った。濃度10～150 mg/mLのIBP-ヘキサン溶液7 mLを装置にセットし、100Wのマイクロ波照射時の温度を測定し、その結果をFig. 4-5に示した。IBPを加えた溶液では、ヘキサンのみに比べて温度上昇が速かった。温度の上昇が階段状に見えるのは、温度センサの出力値が0.1 °C単位であるためである。Fig. 4-6に溶液温度の上昇速度をIBP濃度に対してプロットした結果を示した。濃度が高いほど、温度が上昇しやすい傾向が認められた。温度上昇速度にIBP濃度依存性がみられたことから、IBPはマイクロ波を吸収するということが確

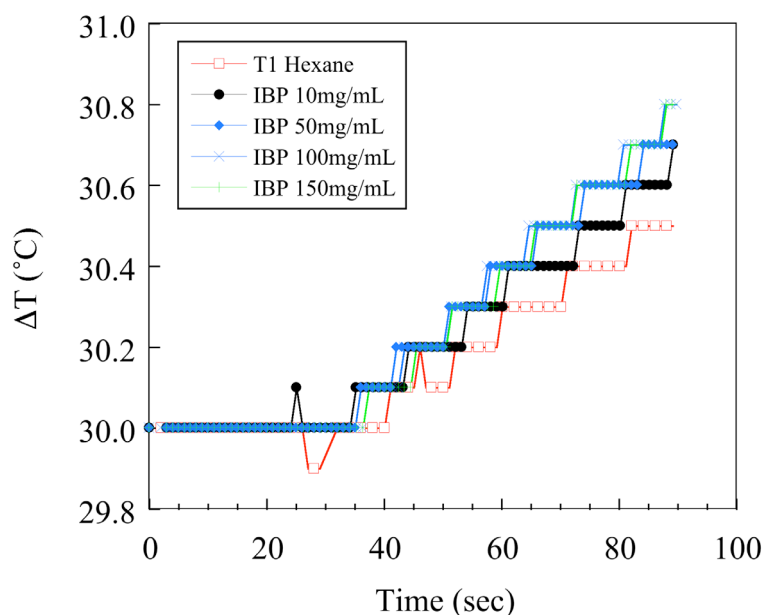


Fig. 4-5 Increase of temperature of IBP-hexane solution during microwave irradiation

認できた。すなわち、IBP溶液にマイクロ波を照射するとIBP分子の極性基が振動することがわかった。

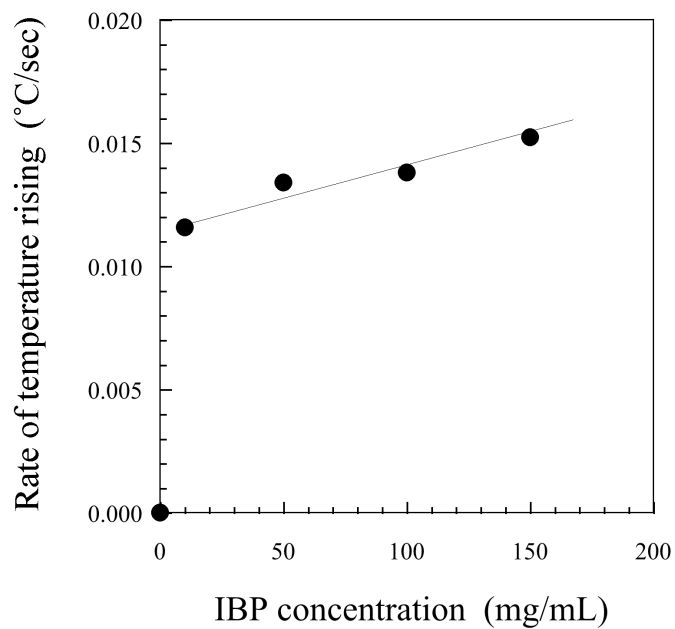


Fig. 4-6 Change in the rising rate of temperature of ibuprofen-hexane solution. 100 W of microwave was irradiated to the solution for 60 sec.

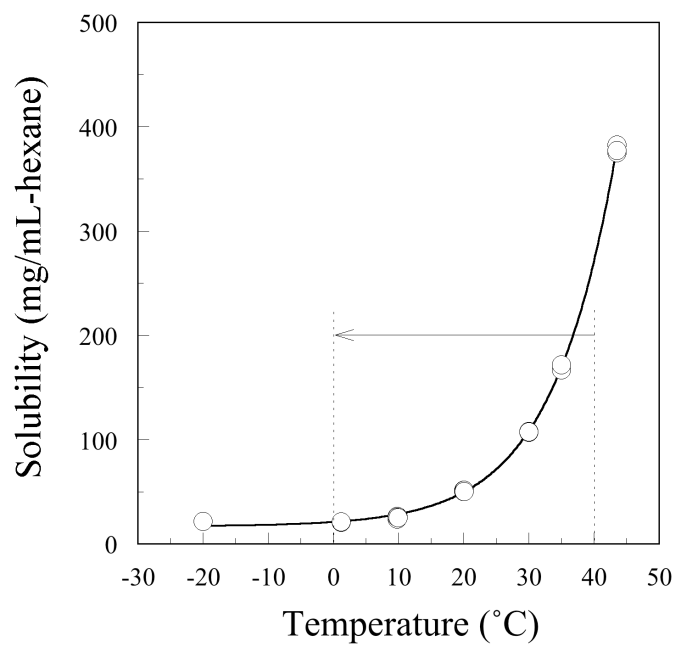


Fig. 4-7 Solubility curve of IBP in hexane

Fig. 4-7にヘキサンに対するIBPの溶解度曲線を示した。IBPはカルボキシル基を持つにもかかわらず、純ヘキサンにかなり高濃度で溶解する。

4.3.2 マイクロ波照射下におけるイブプロフェンの冷却晶析

200 mg/mLのIBP-ヘキサン溶液を調製し、マイクロ波照射下で40 °Cから-1 °Cまで冷却晶析を行った。Fig. 4-7の溶解度曲線からわかるように、40 °Cでは未飽和状態である。37 °Cで飽和となり、それより低温では過飽和状態である。-1 °Cまで冷却したときの過飽和度は9.5となる。低分子の晶析実験では過飽和度1.5程度でも結晶が容易に析出するので、9.5という値が達成できれば非常に高過飽和となる。Fig. 4-8は冷却晶析中の溶液温度の経時変化を示している。マイクロ波の出力は100 Wに設定した。比較実験として、マイクロ波を照射しない条件での冷却晶析も行った。Fig. 4-8からわかるように、マイクロ波を照射してもしなくても同じ冷却操作が行えていることがわかる。

しかし、どちらの溶液も温度が-1 °Cに達しても結晶が析出しなかった。既に

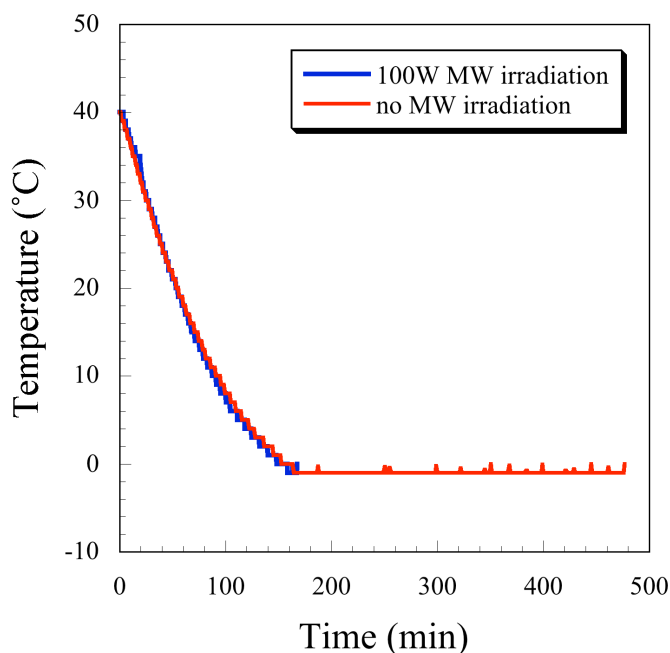


Fig. 4-8 Change in temperature during cooling crystallization

述べたように、過飽和度9.5というのは、非常に飽和度が高い状態である。それにも関わらず結晶が析出しないのは、結晶状態が不安定で析出しにくい、あるいは溶液中でIBP分子が安定化しているためであると推察される。まず、前者であるが、極端に結晶性が悪く結晶状態が不安定な化合物は、結晶化せずオイル化する場合がある。しかし、Fig. 4-9に示したXRDパターンからわかるように、本研究で結晶化を試みているIBP結晶は、有機化合物の結晶構造データベース⁶⁰に収録されているデータと比較しても、十分なシャープな回折が得られており、結晶性は悪くない。従って、アモルファス化はしておらず結晶自体は安定なものと予想される。よって、結晶は不安定ではなく、結晶化が起こらない原因ではないと考えられる。となると、溶液中でIBPが安定化しているのが原因であると推察される。

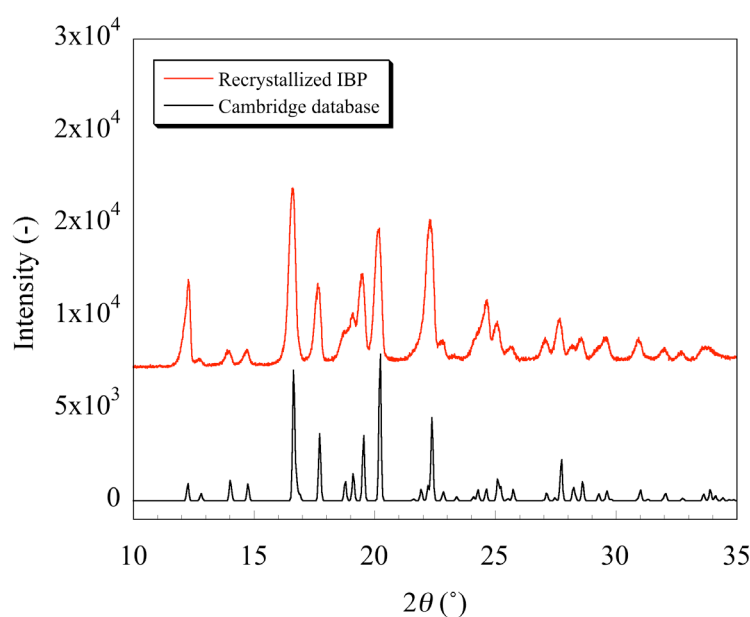


Fig. 4-9 XRD pattern of IBP crystals used for present study (red) and literature data (black)⁶⁰

4.3.3 ヘキサン中におけるイブプロフェン分子の会合体形成

Fig. 4-7に示した溶解度曲線からわかるようにIBPはカルボキシル基を持つにもかかわらず、非極性のヘキサンに対して非常によく溶ける。有機化合物の結晶構造データベース⁶⁰によると、F-g.4-10に示すようにIBPは結晶構造内で他の1つの分子と水素結合によって対を形成している。もし、ヘキサン中でIBP同士が互いに水素結合して極性のカルボキシル基をヘキサンに対して露出しないように構造化していれば、ヘキサンに溶けやすくなると考えられる。ただし、溶液中で2分子で水素結合を形成しているならば、結晶化に有利に作用すると考えられる。カルボキシル基間の水素結合形成が核発生を抑制しているならば、ある分子の水酸基とカルボニル基が他の2つの異なる分子の水酸基およびカルボニル基と水素結合してより大きな構造体を形成している可能性がある。

そこで、まずヘキサン中でIBP分子が水素結合していることを確認するため、NMR測定を行った。濃度10~60 mg/mLとなるようにIBPを重ヘキサンに溶かし、¹H-NMR測定を行った。測定温度は20 °Cである。得られたNMRスペクトルをFig. 4-11に示す。各ピーク上の記号は、図中の構造式で対応する水素原子を示したものである。この中で、H8はカルボキシル基由来の水素原子のシグナルである。OH基などの水素原子が水素結合すると、核の周りの電子が水素結合の相手に引き寄せられる。そのため、遮蔽が弱くなり、低磁場側（ケミカルシフトの数値が大きくなる方向）へピークがシフトする⁶¹⁻⁶³。従って、IBP

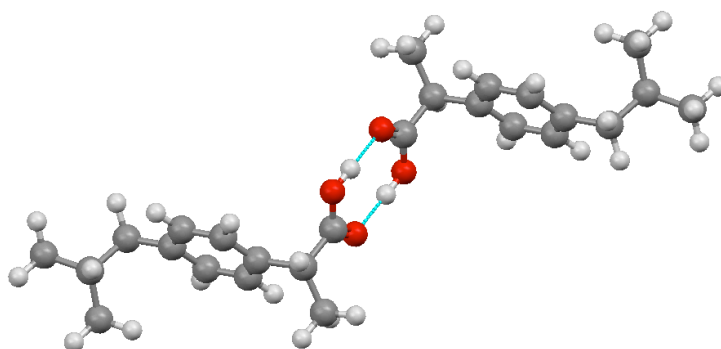


Fig. 4-10 3D-model of IBP molecules in the crystal structure

のH8のケミカルシフトに注目すれば、IBPが溶液中で水素結合しているかどうか判断できる。

Fig. 4-12にIBPのOH基の水素H8のケミカルシフトをIBP濃度に対してプロットしたものを示す。OH基水素のケミカルシフトは、濃度の増加とともに増大した。これは、この水素が水素結合を形成していることを示している。IBP分子は、分子内では水素結合できず、使用した溶媒も非極性のヘキサンであるため、水素結合の相手は別のIBP分子でなければならない。IBP分子が2量体を形成しているのか、1分子で他の2分子と結合して水素結合鎖による大きなクラスターが形成されているのかは、NMRの結果からは特定することはできない。しかし、後者である可能性が高い。なぜなら前述のように結晶構造中にみられたような2量体が形成されているのであれば、既に結晶に近い状態になっていると考えられ、結晶化しやすいはずだからである。しかし、実際には溶液を冷却して過飽和度が9.5という高過飽和状態になっても、結晶化が起らなかった。従って、溶液中ではIBP分子が2量体を形成しているのではなく、もっと大きな

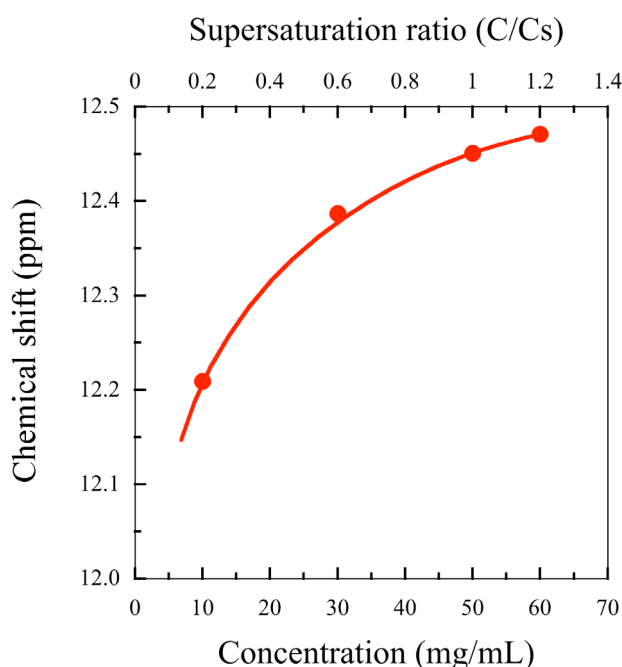


Fig. 4-12 Chemical shift of H8 hydrogen atom in the solution with different concentration.

会合体を形成しているのではないかと考えられる。このような状態から結晶が析出するためには、いったん水素結合を切り、結晶化に適した2量体を形成する必要があると考えられる。

4.3.3 アセトン少量添加系からの冷却晶析

本研究では、マイクロ波照射の有無がIBPの結晶化に及ぼす影響を検討することを目的としている。そこで、ヘキサン中のIBP分子間の水素結合を抑制して結晶化しやすくするために、少量のアセトンを添加した。加えたアセトンの量はIBPに対して1/20 (mol/mol)であり、ヘキサンに対して0.35 vol%に相当する。

アセトン添加条件下で冷却晶析を行ったときの温度変化をFig. 4-13に示した。マイクロ波照射を行わなかったとき、約32 min後に結晶化に伴う発熱が観測された。装置前面に設置したカメラで記録した画像からも、この時点で結晶析出が始まったことが確認された。少量のアセトンを加えたことで、結晶化を

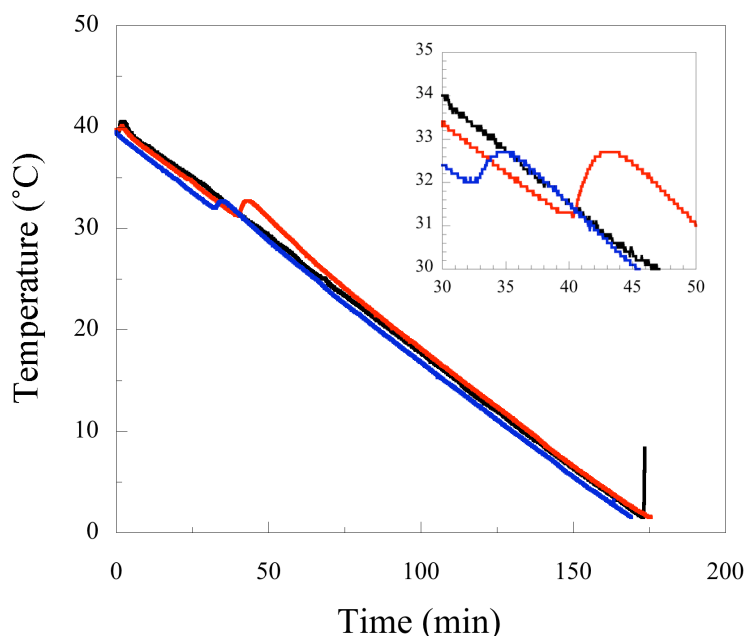


Fig. 4-13 Change in the temperature of the IBP-hexane solution containing acetone during the cooling crystallization. (blue) no microwave irradiation, (red) 100W of the microwave was irradiated, (black) 300 W.

阻害していた会合体形成を抑制できたものと推察される。マイクロ波を出力100 Wで照射したときは、約40分後に結晶析出の発熱が起こった。さらに出力を上げた300 Wの条件では、冷却終了時点でも結晶が析出しなかった。マイクロ波非照射時、および低出力照射時と比較して、300 Wで照射したときは大幅な結晶化抑制効果が確認できた。これは、通常の冷却晶析では達成できない超高過飽和状態を作り出せたことを意味しており、均一な微粒子製造のための新しい技術として期待されるだろう。

さらに興味深いことは、出力300 Wで照射した場合、冷却終了後マイクロ波を停止させてもすぐには結晶が析出しなかったことである。別の実験から照射停止後に冷却を続けても、少なくとも120分経過しても結晶が析出しないことがわかっている。120分以上経過後もマイクロ波効果が持続するかについては確認していない。マイクロ波照射が溶液中のIBP分子に何らかの影響を及ぼし、その効果は少なくとも120分間は持続するようである。

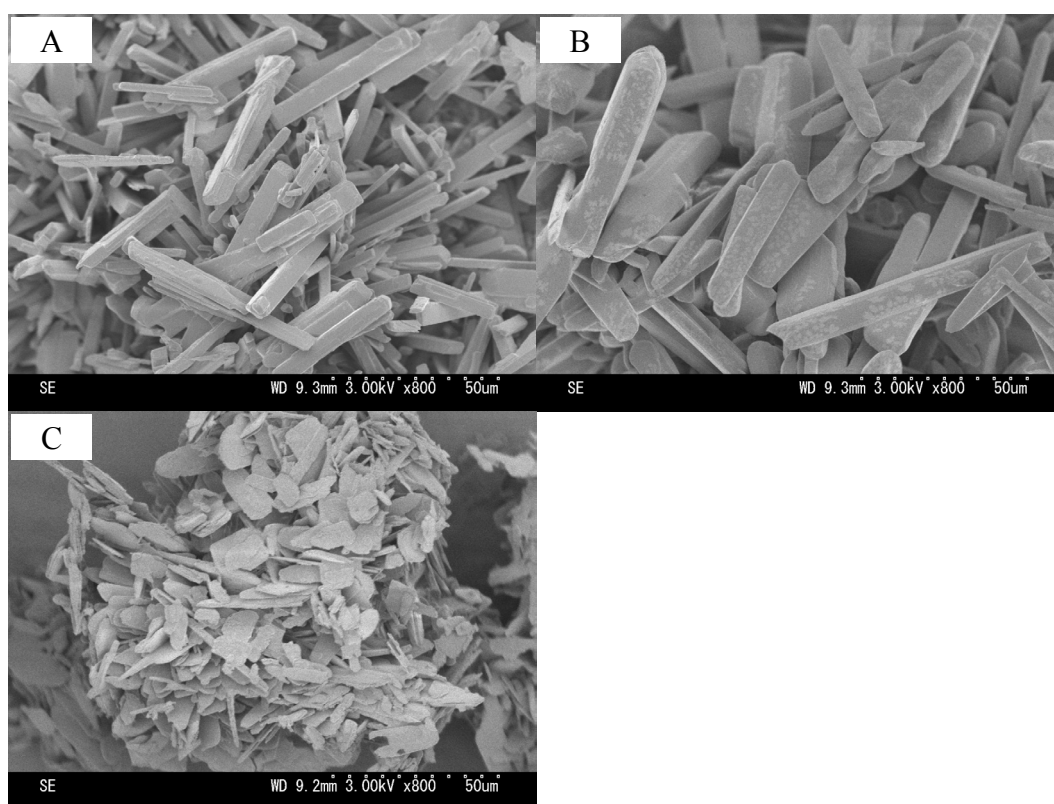


Fig. 4-14 Photographs of the ibuprofen crystals obtained from the solution containing 0.35 % acetone. (a) no microwave irradiation, (b) 100W of the microwave was irradiated, (c) 300 W.

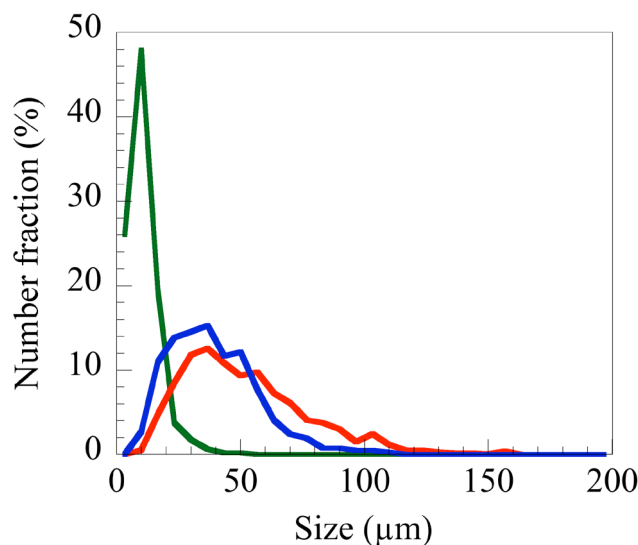


Fig. 4-15 Crystal size distribution of the obtained crystals. (blue) no microwave irradiation, (red) 100W of the microwave was irradiated, (green) 300 W.

300 Wマイクロ波を照射した時の結晶を得るために、ごく微量の種晶を添加し、強制的に結晶を析出させた。種晶添加による結晶化は速く、セル全体に流動できないほど大量の結晶が析出した。

得られた結晶のSEM写真をFig. 4-14に示す。マイクロ波を照射しなかった場合および、100 Wのマイクロ波を照射した場合では、柱状の結晶が得られた。これらの結晶は、ともに冷却途中に析出したものである。従って、冷却過程で成長し続けるため、大きな結晶が得られた。一方、300 Wのマイクロ波を照射しながら冷却した場合は、非常に高過飽和な状態から、一気に結晶が析出したため薄い板状の微結晶が得られた。SEM写真から結晶の長さを計測し、粒径分布としてFig. 4-15に示した。図からわかるように、300 Wのマイクロ波を照射しながら冷却晶析を行うことにより、他の条件と比較して、均一な微結晶が得られた。マイクロ波照射により、冷却中の結晶化が妨げられ、超高過飽和状態を実現できた結果であると考えられる。

4.4 結言

医薬化合物の晶析では、物質の水難溶性が課題となっている。それらの化合物の溶解性向上を目指して、マイクロ波照射下における冷却晶析を試みた。

300Wのマイクロ波を溶液に照射して、溶質分子を絶えず振動させることにより低過飽和度における結晶化を抑制し、通常では到達不可能な超高過飽和度9.5を実現できた。その状態から微量種晶添加によって強制的に核発生させて得られた結晶は、マイクロ波を照射しない場合よりも、均一で微細なものであった。

本研究で検討した原理を用いることで、これまで実現できなかった過飽和状態を作り出すことができることから、新規な均一微結晶製造方法の1つとして期待できる。今後の課題としては、マイクロ波照射終了後も長時間核発生が起こらなかった原因について明らかにすることである。マイクロ波が溶液中の分子の会合状態にどのような影響を及ぼしたのかを探ることは、今後の晶析技術の発展のために重要であると考えられる。

－総括－

本研究では、医薬化合物等の晶析等において、粒子サイズや、純度、多形を制御する新規な3種の晶析装置を提案、製作し、その有効性を明らかにした。

第1章では、研究の背景と目的について述べた。

第2章では、不要な微結晶を溶解除去して均一で大きな結晶を得るための晶析装置「WWDJ回分晶析装置」を提案し、それを用いてグリシンの結晶化を行い、以下の結果を得た。

- 1) 晶析温度を精密に制御する本装置についての伝熱速度を定量化し、制御システムをプログラム化することが可能となった。
- 2) 適切に温度制御を行わないと装置内壁底部に全ての結晶が固着する、いわゆる「スケーリング」が起こることがわかった。一方、適切な温度制御を行うことによりスケーリングが回避できることを示した。
- 3) WWDJ晶析装置による微結晶溶解除去機構を作動することで、大きくて粒径のそろった結晶が得られた。
- 4) 冷却速度を変えてグリシンの結晶化を行ったところ、冷却速度の違いにより異なる多形の結晶が得られた。多形の変化は、従来型晶析装置を用いた場合は起こらなかった。この結果より微結晶溶解操作によって多形の溶媒媒介転移が促進されることが示唆された。
- 5) WWDJ晶析装置を用いることで、得られる結晶の純度が向上することがわかった。不純物は粒径の小さな結晶に多く含まれていた。WWDJ晶析装置では小さな結晶を溶解除去するため、純度向上に寄与したと推察された。

第3章では、水難溶性医薬結晶の溶解性向上を目指して、均一な微結晶を得るための、新しい晶析装置「ミリリットルスケール連続式晶析装置」を提案し、以下の結果を得た。

- 1) 開発した晶析装置は秒単位の平均滞留時間で貧溶媒と溶液を混合、晶析させるものである。今回製作した容量0.9 mLの装置では定常状態に達するのに平均滞留時間の約16倍の時間が必要であった。
- 2) 本品析装置を用いてグリシンの結晶化を行った結果、平均滞留時間が短くなるほど微細で均一な結晶が得られることがわかった。
- 3) グリシンの貧溶媒晶析では、平均滞留時間が0.3から33 secに長くなるほど収率が102から92.5%に低下した。この原因について、平均滞留時間が長いと結晶が装置内に長く留まって成長が支配的となり、核発生が抑制されたためであると考察した。
- 4) 本品析装置を用いてL-アラニンの結晶化を行った結果、細い針状結晶が束になったものが得られた。滞留時間が短くなるほど束の繊維が細くほぐれた結晶が得られた。
- 5) グリシンの結晶化において、滞留時間を制御することで、安定な α 晶または準安定な β 晶を選択的に取得できることがわかった。
- 6) ビーカースケールの半回分式および連続式晶析装置(MSMPR)を用いたときに比べ、ミリリットルスケール晶析装置を用いた場合は、より均一で微小な結晶が得られることがわかった。

第4章では、核発生を制御して均一な微粒子を製造するためにマイクロ波晶析装置を提案し、イブプロフェン(IBP)の結晶化を行い、以下の結果を得た。

- 1) 有機化学合成研究用として市販されているマイクロ波照射装置をベースにして、マイクロ波冷却晶析装置を作製した。
- 2) 晶析溶媒として用いる溶媒を選択するために様々な純溶媒および混合物のマイクロ波吸収特性を検討した結果、本研究にはマイクロ波をほとんど吸収しないヘキサンを選択した。
- 3) ヘキサン中でIBPの冷却晶析を行ったが、高過飽和状態でも結晶が析出しないことがわかった。この原因は、溶液中でIBP分子同士が結晶化に不適切な

水素結合により会合体を形成しているためであることが、NMR測定の結果から示唆された。

- 4) 添加物として少量のアセトンを加えた系では、マイクロ波を照射しない条件および、低出力条件（100 W）では低過飽和領域で結晶が析出したのに対し、300 W照射した場合は過飽和度9.5になっても結晶化せず核発生が抑制されることがわかった。
- 5) マイクロ波照射の効果は、マイクロ波照射停止後も少なくとも120 minは持続することがわかった。
- 6) マイクロ波照射後に得られた結晶は、マイクロ波を照射しないで得られた結晶に比べて、均一で微小なものであることがわかった。

本研究は工業的な晶析操作で要求される様々な結晶特性を制御するための新しい晶析装置の開発について検討したものである。本研究で検討した3種類の晶析装置は、工業的規模までのスケールアップが可能かについては検討していないが、これまでに提案されてこなかったこれらの原理を応用することが、目的の特性を持つ結晶を得るために利用可能であることを示した。今回得られた研究成果は、工業晶析技術のあらたな発展に貢献するものとする。

－参考文献－

- (1) 大嶋寛, 晶析の課題: 粒径分布と多形制御・結晶核形成メカニズムの解明の重要性. 粉体工学会誌 **2001**, 38, 9.
- (2) Haleblia, J.; Mccrone, W., Pharmaceutical Applications of Polymorphism. J. Pharm. Sci. **1969**, 58, 911.
- (3) Haleblan, J. K., Characterization of Habits and Crystalline Modification of Solids and Their Pharmaceutical Applications. J. Pharm. Sci. **1975**, 64, 1269-1288.
- (4) 日本プロセス化学会, 医薬品のプロセス化学. ed.; 化学同人: 2005.
- (5) Jones, A. G.; Mullin, J. W., Programmed Cooling Crystallization of Potassium Sulfate Solutions. Chem. Eng. Sci. **1974**, 29, (1), 105-118.
- (6) Mullin, J. W.; Nyvlt, J., Programmed Cooling of Batch Crystallizers. Chem. Eng. Sci. **1971**, 26, (3), 369.
- (7) Jagadesh, D.; Kubota, N.; Yokota, M.; Doki, N.; Sato, A., Seeding effect on batch crystallization of potassium sulfate under natural cooling mode and a simple design method of crystallizer. J. Chem. Eng. Jpn. **1999**, 32, (4), 514-520.
- (8) Kubota, N.; Doki, N.; Yokota, M.; Sato, A., Seeding policy in batch cooling crystallization. Powder Technol. **2001**, 121, (1), 31-38.
- (9) Brittain, H. G., Polymorphism in Pharmaceutical Solids. 2nd ed.; Informa Healthcare: 2009.
- (10) Aguiar, A. J.; Krc, J.; Kinkel, A. W.; Samyn, J. C., Effect of Polymorphism on Absorption of Chloramphenicol from Chloramphenicol Palmitate. J. Pharm. Sci. **1967**, 56, (7), 847.
- (11) Correa, C. M., Pharmaceutical inventions: when is the granting of a patent justified? International Journal of Intellectual Property Management, **2006**, 1, 18.
- (12) Gardner, C.; Almarsson, O.; Chen, H.; Morissette, S.; Peterson, M.; Zhang, Z.; Wang, S.; Lemmo, A.; Gonzalez-Zugasti, J.; Monagle, J.; Marchionna, J.; Ellis, S.; McNulty, C.; Johnson, A.; Levinson, D.; Cima, M., Application of high throughput technologies to drug substance and drug product development. Computers & Chemical Engineering **2004**, 28, 943-953.
- (13) Lommerse, J. P. M.; Motherwell, W. D. S.; Ammon, H. L.; Dunitz, J. D.; Gavezzotti, A.; Hofmann, D. W. M.; Leusen, F. J. J.; Mooij, W. T. M.; Price, S. L.; Schweizer, B.; Schmidt, M. U.; van Eijck, B. P.; Verwer, P.; Williams, D. E., A test of crystal structure prediction of small organic molecules. Acta Crystallogr B **2000**, 56, 697-714.
- (14) Motherwell, W. D. S.; Ammon, H. L.; Dunitz, J. D.; Dzyabchenko, A.; Erk, P.; Gavezzotti, A.; Hofmann, D. W. M.; Leusen, F. J. J.; Lommerse, J. P. M.; Mooij, W. T. M.; Price, S. L.; Scheraga, H.; Schweizer, B.; Schmidt, M. U.; van Eijck, B.

- P.; Verwer, P.; Williams, D. E., Crystal structure prediction of small organic molecules: a second blind test. *Acta Crystallogr B* **2002**, 58, 647-661.
- (15) Mooij, W. T. M.; van Eijck, B. P.; Price, S. L.; Verwer, P.; Kroon, J., Crystal structure predictions for acetic acid. *J. Comput. Chem.* **1998**, 19, (4), 459-474.
- (16) Li, N.; Shanks, R.; Murphy, D., Solution-mediated transformation of photographic coupler. *J. Cryst. Growth* **2001**, 224, (1-2), 128-133.
- (17) 平山令明, 有機化合物結晶作製ハンドブック ー原理とノウハウー. ed.; 丸善: 2008.
- (18) 分離技術会, 分離技術ハンドブック. ed.; 分離技術会: 2010.
- (19) Yokota, M.; Saito, N.; Sato, A.; Kubota, N., Equation of purity for crystals produced from a CMSMPR crystallizer. *Chem Eng Commun* **2003**, 190, (4), 533-539.
- (20) Saito, A.; Igarashi, K.; Azuma, M.; Ooshima, H., Effects of a solute analogue p-acetoacetanilide on the crystallization of p-acetanilide. *J. Chem. Eng. Jpn.* **2003**, 36, (8), 953-958.
- (21) Blagden, N.; Davey, R. J.; Rowe, R.; Roberts, R., Disappearing polymorphs and the role of reaction by-products: the case of sulphathiazole. *Int. J. Pharm.* **1998**, 172, (1-2), 169-177.
- (22) Chianese, A., 15 Fines Removal. In *Industrial Crystallization Process Monitoring and Control*, Chianese, A., Kramer, H. J., Ed. Wiley: 2012.
- (23) Shan, G.; Igarashi, K.; Noda, H.; Ooshima, H., Production of large crystals with a narrow crystal size distribution by a novel WWDJ batch crystallizer. *Chem. Eng. J.* **2002**, 85, (2-3), 161-167.
- (24) Shan, G.; Igarashi, K.; Noda, H.; Ooshima, H., Control of solvent-mediated transformation of crystal polymorphs using a newly developed batch crystallizer (WWDJ-crystallizer). *Chem. Eng. J.* **2002**, 85, (2-3), 169-176.
- (25) Marsh, R. E., A Refinement of the Crystal Structure of Glycine. *Acta Crystallogr* **1958**, 11, (9), 654-663.
- (26) Iitaka, Y., *Acta Crystallogr.* **1960**, 13, 35.
- (27) Iitaka, Y., *Acta Crystallogr.* **1961**, 14, 1.
- (28) Paroni, R.; Devecchi, E.; Cighetti, G.; Arcelloni, C.; Fermo, I.; Grossi, A.; Bonini, P., HPLC with O-Phthalaldehyde Precolumn Derivatization to Measure Total, Oxidized, and Protein-Bound Glutathione in Blood, Plasma, and Tissue. *Clin. Chem.* **1995**, 41, (3), 448-454.
- (29) 平山令明, 有機結晶作製ハンドブック. ed.; 丸善: 2000.
- (30) Marsh, R. E., *Acta Crystallogr.* **1958**, 11, 654.
- (31) Ostwald, W., *Z. Phys. Chem.* **1897**, 22, 289.
- (32) Anderson, N. G., プロセス化学 医薬品合成から製造まで. ed.; 丸善: 2008.

- (33) Bittner, B.; Mountfield, R. J., Formulations and related activities for the oral administration of poorly water-soluble compounds in early discovery animal studies - An overview of frequently applied approaches - Part 1. *Pharm Ind* **2002**, 64, (8), 800-807.
- (34) Bittner, B.; Mountfield, R. J., Intravenous administration of poorly soluble new drug entities in early drug discovery: The potential impact of formulation on pharmacokinetic parameters. *Current Opinion in Drug Discovery & Development* **2002**, 5, (1), 59-71.
- (35) Kakran, M.; Sahoo, N. G.; Li, L.; Judeh, Z.; Wang, Y.; Chong, K.; Loh, L., Fabrication of drug nanoparticles by evaporative precipitation of nanosuspension. *Int. J. Pharm.* **2010**, 383, (1-2), 285-292.
- (36) Sharma, P.; Denny, W. A.; Garg, S., Effect of wet milling process on the solid state of indomethacin and simvastatin. *Int. J. Pharm.* **2009**, 380, (1-2), 40-48.
- (37) Soliman, O. A. E.; Kimura, K.; Hirayama, F.; Uekama, K.; ElSabbagh, H. M.; AbdelGawad, A. H.; Hashim, F. M., Amorphous spironolactone-hydroxypropylated cyclodextrin complexes with superior dissolution and oral bioavailability. *Int. J. Pharm.* **1997**, 149, (1), 73-83.
- (38) Arima, H.; Yunomae, K.; Miyake, K.; Irie, T.; Hirayama, F.; Uekama, K., Comparative studies of the enhancing effects of cyclodextrins on the solubility and oral bioavailability of tacrolimus in rats. *J. Pharm. Sci.* **2001**, 90, (6), 690-701.
- (39) Kimura, K.; Hirayama, F.; Arima, H.; Uekama, K., Effects of aging on crystallization, dissolution and absorption characteristics of amorphous tolbutamide-2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complex. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* **2000**, 48, (5), 646-650.
- (40) Breitenbach, J., Melt extrusion: from process to drug delivery technology. *EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS* **2002**, 54, (2), 107-117.
- (41) Kapsi, S. G.; Ayres, J. W., Processing factors in development of solid solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. *Int. J. Pharm.* **2001**, 229, (1-2), 193-203.
- (42) Sugimoto, M.; Okagaki, T.; Narisawa, S.; Koida, Y.; Nakajima, K., Improvement of dissolution characteristics and bioavailability of poorly water-soluble drugs by novel cogrinding method using water-soluble polymer. *Int. J. Pharm.* **1998**, 160, (1), 11-19.
- (43) Leuner, C.; Dressman, J., Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* **2000**, 50, (1), 47-60.
- (44) Simpson, H. J.; Marsh, R. E., Crystal Structure of L-Alanine. *Acta Crystallogr* **1966**, 20, 550-&.
- (45) Orella, C. J., Ph. D. dissertation, University of Virginia **1990**.

- (46) Myerson, A. S., Handbook of Industrial Crystallization. 2nd Edition ed.; Butterworth-Heinemann: 2001.
- (47) Kitamura, M., Polymorphism in the Crystallization of L-Glutamic Acid. *J. Cryst. Growth* **1989**, 96, (3), 541-546.
- (48) Maruyama, S.; Ooshima, H., Crystallization behavior of taltirelin polymorphs in a mixture of water and methanol. *J. Cryst. Growth* **2000**, 212, (1-2), 239-245.
- (49) Moribe, K.; Tozuka, Y.; Yamamoto, K., Supercritical carbon dioxide processing of active pharmaceutical ingredients for polymorphic control and for complex formation. *Advanced Drug Delivery Reviews* **2008**, 60, (3), 328-338.
- (50) Hezave, A. Z.; Aftab, S.; Esmaeilzadeh, F., Micronization of creatine monohydrate via Rapid Expansion of Supercritical Solution (RESS). *J. Supercrit. Fluids* **2010**, 55, (1), 316-324.
- (51) Hezave, A. Z.; Aftab, S.; Esmaeilzadeh, F., Micronization of ketoprofen by the rapid expansion of supercritical solution process. *J. Aerosol Sci* **2010**, 41, (8), 821-833.
- (52) Hezave, A. Z.; Esmaeilzadeh, F., Crystallization of micro particles of sulindac using rapid expansion of supercritical solution. *J. Cryst. Growth* **2010**, 312, (22), 3373-3383.
- (53) Reverchon, E., Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nano-particles. *J. Supercrit. Fluids* **1999**, 15, (1), 1-21.
- (54) Boutin, O., Influence of introduction devices on crystallisation kinetic parameters in a supercritical antisolvent process. *J. Cryst. Growth* **2012**, 342, (1), 13-20.
- (55) Chen, K. X.; Zhang, X. Y.; Pan, J.; Yin, W. H., Recrystallization of andrographolide using the supercritical fluid antisolvent process. *J. Cryst. Growth* **2005**, 274, (1-2), 226-232.
- (56) Warwick, B.; Dehghani, F.; Foster, N. R.; Biffin, J. R.; Regtop, H. L., Synthesis, purification, and micronization of pharmaceuticals using the gas antisolvent technique. *Industrial & Engineering Chemistry Research* **2000**, 39, (12), 4571-4579.
- (57) マイクロ波応用技術研究会, 初歩から学ぶマイクロ波応用技術. ed.; 工業調査会: 2004.
- (58) マイクロ波の新しい工業利用技術-ナノ・微粒子製造から殺菌・環境修復まで-. ed.; エヌ・ティー・エス: 2003.
- (59) Hayes, B. L., Microwave Synthesis. ed.; CEM Publishing PO Box 2000: 2002.
- (60) Allen, F. H., The Cambridge Structural Database: a quarter of a million crystal structures and rising. *Acta Crystallogr B* **2002**, 58, 380-388.
- (61) Buckingham A. D., T. S. a. W. G. S., Solvent Effects in Nuclear Magnetic Resonance Spectra. *J. Chem. Phys.* **1960**, 32, 7.

- (62) Wallen, S. L.; Palmer, B. J.; Garrett, B. C.; Yonker, C. R., Density and temperature effects on the hydrogen bond structure of liquid methanol (vol 100, pg 3959, 1996). *J. Phys. Chem.* **1996**, 100, (51), 20173-20173.
- (63) Gordon, S.; Dailey, B. P., Density Versus Chemical Shift in NMR Spectra. *J. Chem. Phys.* **1961**, 34, (3), 1084.

－発表論文－

1. 2章 H. Ooshima, K. Igarashi, Y. Sasaki, M. Azuma, H. Noda, “Production of Large Crystals of Glycine with a Narrow Size Distribution Using WWDJ-Batch Crystallizer”, *Chemical Engineering Transactions*, **1**, 981-986, 2002
2. 2章 K. Igarashi, Y. Sasaki, M. Azuma, H. Noda, H. Ooshima, “Control of Polymorphs on the Crystallization of Glycine Using WWDJ Batch Crystallizer”, *Eng. Life. Sci.*, **3**, 159-163, 2003
3. 3章 K. Igarashi, Y. Yamanaka, M. Azuma and H. Ooshima, “Control of Crystal Size Distribution Using a mL-Scale Continuous Crystallizer Equipped with a High Speed Agitator”, *Journal of Chemical Engineering of Japan*, **45(1)**, 28-33, 2012
4. 4章 Y. Nishitani, K. Igarashi, H. Ooshima, “Control of Nucleation by Microwave Irradiation in Cooling Crystallization and Its Effects on Characteristics of Crystals”, *Proc. of 8th International Conference on Separation Science and Technology*, 2008

謝辞

本研究を行うにあたり、終始懇篤なる御指導および御鞭撻を賜りました、大阪市立大学大学院工学研究科 大嶋 寛教授に心より感謝の意を表します。

本研究の執筆にあたり、有益な御助言及び御指導を頂きました、大阪市立大学大学院工学研究科 田辺 利住教授、同 辻 幸一教授に御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、多大なる御助言及び御指導を頂きました大阪市立大学大学院工学研究科 東 雅之教授に御礼申し上げます。

本研究を行うにあたり、様々な装置を作製して頂きました大阪市立大学工作技術センター 技術職員の皆様方に御礼申し上げます。